



Revue Francophone des Laboratoires



Volume 2016, Issue 484,
Pages 3-90
Juillet - Aout 2016

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](http://www.lemondedespharmaciens.com)

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/lemondedespharmaciens)

 [#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
62, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax : 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES
Yasmina Ouharzoune
y.ouharzoune@elsevier.com

RÉDACTRICE EN CHEF :
Martine Tirouche
m.tirouche@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :
Claude Naudin
clnaudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :
Revue de presse :
Joël Gozlan, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès,
Vincent Maréchal, Michel Segondy
Actualités — Santé publique — Veille juridique :
Jean-Marie Manus
FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING — RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Sonia Tadjdet (58 60)
s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ — DIRECTEUR DES VENTES :
Nicolas Zarjevski (51 38)
Mobile : 06 14 68 51 26
n.zarjevski@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :

Tél. : 01 71 16 55 99 — Fax : 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom, 48 rue de Dantzig, 75015 Paris.

IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright© 2016 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F - 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

PASIEKA/SPL/PHANIE
Dépôt légal : à parution

Couverture
© U. WALZ / ARCO / BSIP

Index des annonceurs
Elsevier Masson 4 - 7 - 24 - 48 - 73 - 80 - 2° et 3° de couv
Biorad 13 et 4° de couv
lds 17

édito

SOS, recherche en danger!

« Le financement de la recherche n'est pas une variable d'ajustement », disent Académie des sciences et Académie nationale de médecine¹, exprimant « leurs préoccupations concernant les moyens alloués à la recherche et à l'innovation en France », justifiées par l'annonce d'une réduction supplémentaire de 256 millions d'euros des crédits Recherche et Enseignement supérieur. Non, ces crédits n'ont pas vocation à rééquilibrer un budget fragile!

La communauté scientifique y a vu « un désaveu des efforts qu'elle réalise, alors que le soutien à la recherche et à l'innovation s'intensifie dans tous les pays avancés », d'où risque de chute de compétitivité de la France. Ce n'est pas en réduisant le soutien à la recherche que l'on sort des difficultés économiques mais « c'est en pariant sur une recherche de haut niveau et sur les innovations qui en découlent, que le pays pourra compter sur des retombées économiques et sociales en termes de création de richesse et d'emploi ».

L'Élysée a renoncé à l'annulation de 134 millions d'euros de crédits grâce à des scientifiques de haut niveau venus y plaider la cause de la recherche, alors que l'annonce de ces coupes budgétaires avait provoqué un tollé : sept Prix Nobel et une médaille Fields évoquant dans *Le Monde* une mesure-coup de massue et un suicide scientifique et industriel².

Interpellant au Sénat Thierry Mandon, secrétaire d'État à l'Enseignement supérieur et à la Recherche, Brigitte Gonthier-Maurin (groupe Communiste républicain et citoyen), s'offusquait de cette suppression de crédits dite *mesure technique* ! « Voilà comment vous qualifiez les 256 millions d'euros d'annulation de crédits sur le budget de l'enseignement supérieur et de la recherche ! Je le précise, sur cette somme, 134 millions d'euros sont ponctionnés sur les organismes de recherche ; cela représente près de 25 % du 1,1 milliard d'euros d'annulations de crédits de paiement décidées pour 2016. Et vous prévoyez 2 milliards d'euros de coupes supplémentaires pour le budget de 2017 ».

Elle conclut : « Comme le prouve la très vive réaction que suscitent ces mesures, le décalage entre le discours et la réalité sur le terrain, ainsi que dans les laboratoires et les unités de recherche, est devenu insupportable ».

RFL

[1] Académie nationale de médecine, communiqué, 25/5/2016

[2] Cité par Biotech Info.fr dans La recherche l'a échappé belle!

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (Paris).

BUREAU : Bruno BAUDIN (Paris), Dominique CHABASSE (Angers), Alain CHEVAILLER (Angers), Éric GARNOTEL (Marseille), Michèle IMBERT (Créteil), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (Angers), Marc MAYNADIÉ (Dijon), Michel SEGONDY (Montpellier).

COMITÉ :

MEMBRES FRANÇAIS : Frédéric BARBUT (Paris), Patrice BOURÉE (Le Kremlin-Bicêtre), René CHERMETTE (Maisons-Alfort), Claude GUIGUEN (Rennes), Paul HOFMAN (Nice), François JEHL (Strasbourg), Saïd KAMEL (Amiens), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (Lyon), Jean-Jacques LATAILLADE (Clamart), Jean-Philippe LAVIGNE (Nîmes), Jérôme LE GOFF (Paris), Michèle MALET (Caen), Vincent MARÉCHAL (Paris), Denis MASSIGNON (Lyon), Thierry MOLINA (Paris).

MEMBRES ÉTRANGERS : Smail BELAZZOUG (Algérie), Ahcène DEMBRI (Algérie), Hicham OUAZZANI (Maroc), Lassaad SARRAI (Tunisie), Abderrahim TAZI (Maroc).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (Toulouse), Jean-Louis KOECK (Bordeaux), Anne-Marie MANEL (Champagne-au-Mont-d'Or), Jean-Claude NICOLAS (Chatou/Princeton, USA), Michel VAUBOURDOLLE (Paris).

Abusus non tollit usum

Prestations de conseil (13)

Streptocoque B et grossesse

Streptococcus agalactiae ou streptocoque du groupe B (SGB) est une bactérie commensale des voies digestives à partir desquelles se fait la colonisation des voies génitales. Au cours de la grossesse, le dépistage s'effectue entre la 35^e et la 38^e semaine de gestation et/ou en cas de travail prématuré voire de rupture prématurée des membranes. Une femme peut être positive pour le SGB à un moment de la grossesse et négative à un autre, le portage est en effet fluctuant. C'est pourquoi, il est important de procéder au dépistage au moment le plus proche du terme lorsqu'il existe un risque potentiel de transmission de la bactérie au nouveau-né.

Cas clinique

Lors de la consultation systématique du 5^e mois de grossesse, la gynécologue de Mme X, bien que la patiente ne présente pas de facteurs de risques particuliers d'infection urinaire (pas d'uropathie sous-jacente, pas de diabète, pas d'ATCD de cystite récidivante ni de niveau socioéconomique défavorisé) lui a prescrit un ECBU, suite à une bandelette urinaire révélant une leucocyturie positive.

L'examen réalisé au laboratoire (2^e jet urinaire après toilette désinfectante soigneuse) donne les résultats suivants :

Leucocytes 8 000/mL ; hématies < 1 000 /mL ; assez nombreuses cellules épithéliales. La culture (10⁶/mL) identifie un

Streptocoque groupe B (SGB) dont l'antibiogramme interprété conclue à « S » pour Pénicilline G, Ampicilline, Oxacilline ; Erythromycine ; Pristinamycine ; Lincomycine ; Levofloxacine ; Triméthoprim-sulfamides et « R » pour Gentamicine et Doxycycline.

Au vu de ces résultats, la patiente est mise sous Amoxicilline 1 g per os x 7 j et un ECBU de contrôle sera réalisé 20 jours après dans le respect des recommandations de la SPILF (Société des Pathologies Infectieuses Langue Française). Résultats : leucocytes 14 000/mL ; hématies 16 000/mL ; assez nombreuses cellules épithéliales. Culture : *Streptococcus* groupe B (10⁴/mL) ; « S » pour Pénicilline G, Ampicilline, Oxacilline ; Erythromycine ; Pristinamycine ; Lincomycine ; Levofloxacine ; Triméthoprim-sulfamides, « R » pour Gentamicine et Doxycycline.



CHASSENET/BSIP

Concertation clinico-biologique

Devant ces résultats, le biologiste est sollicité pour un conseil sur la seconde antibiothérapie à mettre en place dès lors que la première n'a pas été suffisante pour éradiquer le SGB.

- La licéité de la prescription ne fait aucun doute : le dépistage d'une colonisation urinaire par bandelette urinaire (BU) est recommandé chez toutes les femmes enceintes aux consultations des 4^e, 5^e, 6^e, 7^e, 8^e et 9^e mois. Si celle-ci est positive (leucocytes ou nitrites positifs) un ECBU doit être réalisé.
- Les conditions pré-analytiques requises sont satisfaisantes ; la distinction chez une patiente asymptomatique entre colonisation vraie et simple contamination due à un prélèvement de mauvaise qualité est pertinente.
- Dans le cadre d'un suivi de grossesse, la conduite à tenir va dépendre étroitement des facteurs de risques et de la clinique. L'attitude thérapeutique découlera des trois entités distinctes possibles (*voir encadrés 1, 2 et 3*).
- La seule connaissance de l'absence de facteurs de risque invite à préciser la symptomatologie qui pourrait être en faveur d'une cystite gravidique (mais la gynécologue confirme qu'il n'y a aucun troubles mictionnels ni de pollakiurie), voire d'une pyélonéphrite gravidique (mais pas l'ombre d'un fébricule, d'une douleur à droite ni de lombalgie même sourde).
- Le rapprochement de la clinique et de la biologie (dont la présence de cellules épithéliales), incite le biologiste à considérer qu'il s'agit d'une colonisation urinaire gravidique par *Streptococcus* groupe B, définie par la présence, sur 2 cultures consécutives réalisées à une ou deux semaines d'intervalle, de la même bactérie à un seuil $> 10^5$ UFC/mL. Le seuil retenu pour retenir une colonisation urinaire gravidique est volontairement plus élevé que celui définissant l'infection urinaire des patientes symptomatiques (seuil des cystites qui varie entre 10^3 et 10^4 UFC/mL selon la bactérie en cause).
- Le second ECBU a révélé une recolonisation rapide, fréquente avec ce germe ayant la particularité à partir des intestins de certaines femmes de coloniser le vagin par intermittence, sans possibilité d'éradiquer ce portage.

Au total, la synthèse de ces constats porte le biologiste à conseiller l'abstention thérapeutique ainsi que la réalisation d'un ECBU mensuel jusqu'à l'accouchement, conformément aux dernières recommandations en cas de bactériurie asymptomatique.

La prestation de conseil vaut également pour la patiente que le biologiste convainc de l'inutilité d'un traitement immédiat en dessous de 10^5 UFC/mL et asymptomatique en lui précisant qu'elle bénéficiera d'un traitement le jour J, celui de l'accouchement.

Enfin, c'est juste notre avis.

Fabrice Guerber
fabrice.guerber@oriade.fr
Claude Naudin
clnaudin@numericable.fr

Encadré 1

La colonisation urinaire (bactériurie asymptomatique)

Elle correspond à la présence d'un micro-organisme dans les urines, sur 2 cultures consécutives (réalisées à 1 ou 2 semaines d'intervalle), de la même bactérie à un seuil $> 10^5$ UFC/mL, sans manifestations cliniques associées. La leucocyturie n'intervient pas dans la définition.

Le traitement antibiotique des colonisations gravidiques, non probabiliste, évite l'évolution vers une PNA ; il est donc recommandé pour toute bactériurie monomicrobienne $\geq 10^5$ UFC/mL, y compris pour le streptocoque B. Sa durée est de 7 j sauf pour fosfomycine- trométamol monodose.

Un suivi après traitement est recommandé par un ECBU de contrôle 8 à 10 jours après l'arrêt du traitement (la réalisation d'un ECBU trop précoce, par exemple à 48 h de la fin du traitement, n'est pas recommandée, du fait d'un risque d'une culture encore négative à ce stade, rassurant à tort).

Encadré 2

La cystite aiguë gravidique

Caractérisée par 3 signes habituels : brûlures et douleurs à la miction, mictions impérieuses, pollakiurie. Absence de fièvre et l'absence de douleurs lombaires (évocatrices d'une PNA).

Le diagnostic de cystite aiguë gravidique repose sur l'association de signes cliniques évocateurs et d'un ECBU positif avec leucocyturie et bactériurie significatives : le seuil de leucocyturie considéré comme significatif est $> 10^4$ /mL et le seuil de bactériurie considéré comme significatif est :

- pour *E. coli* et *Staphylococcus saprophyticus* $> 10^3$ UFC/mL

- pour les autres entérobactéries, les entérocoques, *Corynebacterium urealyticum*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* $> 10^4$ UFC/mL.

Un traitement antibiotique probabiliste doit être débuté ici, sans attendre les résultats de l'antibiogramme, il sera ensuite ré-évalué et poursuivi pour une durée totale de 7 jours sauf pour fosfomycine-trométamol monodose.

Encadré 3

La pyélonéphrite aiguë gravidique (0,5 à 1 % des grossesses)

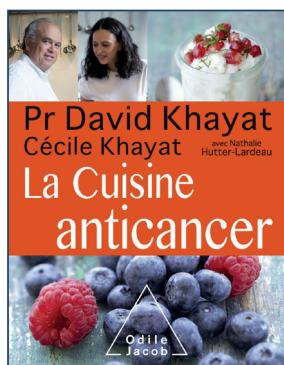
Elle est à l'origine d'une morbidité maternelle importante (25 % des sepsis maternels sont d'origine urinaire).

Un ECBU doit être effectué en urgence et un traitement antibiotique probabiliste en IV doit être débuté sans attendre les résultats de l'antibiogramme puis être évalué et poursuivi pour une durée totale de 10 à 14 jours. Un avis obstétrical doit être systématique, quel que soit le terme de la grossesse.

LIVRES

La cuisine anticancer

Une cuisine gourmande, savoureuse et anticancer, c'est le projet du livre du Pr David Khayat. Bien manger pour mettre toutes les chances de son côté et limiter le risque de cancer. On découvre qu'il est possible de faire bon pour le goût et bon pour la santé en même temps. Cécile Khayat, jeune pâtissière et passionnée de cuisine, a imaginé de délicieuses recettes à partir d'aliments sélectionnés tant pour leur goût et leurs bienfaits que pour leurs propriétés anticancer, avec des recettes inventives, conviviales et faciles à réaliser, en peu de temps, par chacun d'entre nous. Manger sain devient un véritable plaisir. On y découvrira 120 recettes, 60 produits, pour cuisiner sain tout en conservant le goût des bonnes choses. Un livre de recettes anticancer tout à fait nouveau. Le Pr David Khayat



est chef de service de cancérologie à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris et enseigne à l'Université parisienne Pierre-et-Marie-Curie. Il a notamment publié de grands succès de librairie :

Les Chemins de l'espoir, Le Vrai Régime anticancer, Les recettes gourmandes du vrai régime anticancer, De larmes et de sang, Prévenir le cancer, Ça dépend aussi de vous. Cécile Khayat, chef pâtissière et cuisinière, a notamment travaillé chez Pierre Hermé. Elle a créé et réalisé toutes les recettes de ce livre.

Nathalie Hutter-Lardeau apporte son expertise de spécialiste en nutrition pour les produits présentés dans ce livre. ■■

David Khayat Cécile Khayat avec Nathalie Hutter-Lardeau. Éditions Odile Jacob. 398 p. www.odilejacob.fr

Café et Médecine en 20 questions

Ce recueil particulièrement exhaustif sur les différents aspects de l'interaction entre la consommation de café et divers aspects de la santé humaine, rédigé sous la direction du Dr Astrid Nehlig (INSERM U663), avec le concours du Dr Patrick Serog, nutritionniste, a pour objectif de répondre aux questions fréquemment posées en consultation de nutrition. Ces questions sont diverses. Qu'y a-t-il dans le café, ses effets sont-ils liés à la caféine ? Les effets du café sont-ils identiques chez tous, combien de cafés peut-on boire chaque jour ? Peut-on devenir dépendant au café, quels sont ses effets sur le cœur ? L'ouvrage résume les données les plus récentes sur le café, selon une approche globale, ses actions et l'en-

semble de ses constituants. Car le café est un tout et l'ensemble de ses composés peuvent agir de façon opposée ou synergique. Par exemple certains com-



posés ont une action opposée à celle de la caféine (sur laquelle on a tendance à se fixer). Les auteurs le disent, les effets du café sont mieux connus, notamment concernant ses effets positifs. Café et grossesse, café et allaitement maternel, café et santé osseuse, café et

mémoire (et sommeil), café et système cardiovasculaire... En 20 questions avec réponses, ici est fait le point sur les connaissances actuelles et la littérature internationale. ■■

Astrid Nehlig, Patrick Serog. 66 p. Éditions Expressions Santé. www.santeetcafe.com

AGENDA

juillet-novembre 2016

ASCO/American society of clinical oncology

3-7 juillet 2016

Chicago

www.am.asco.org

ECTRIMS/Sclérose en plaques Europe

14-17 septembre 2016

Londres

www.ectrims-congress.eu

AIDS 2016

21^e conférence internationale sida

18-22 juillet 2016

Durban (Afrique du Sud)

www.aids2016.org

Groupe européen Helicobacter et microbiote (EHMSG)

15-17 septembre 2016

Magdebourg (Allemagne)

<http://www.helicobacter.org/2016/index.html>

EFLM-UEMS/Laboratory medicine at the clinical interface

21-24 septembre 2016

Varsovie

www.eflm-uems.warsaw2016.eu

Congrès de biologie clinique/Corata belge

28-29 septembre 2016

Strasbourg

www.ibs-corata.org

EAACI-FAAM/Food allergy & anaphylaxis

13-15 octobre 2016

Rome

www.eaaci-faam.org

Preclinical neurodegenerative conference

A Lancet neurology conference

19-21 octobre 2016

Londres

www.preclinicalnndconference.com

(S'inscrire avant le 12 août)

World conference on lung health

26-29 octobre 2016

Liverpool

www.worldlunghealth.org

Obesity Week

31 octobre-4 novembre 2016

La Nouvelle Orléans

<http://obesityweek.com/schedule/>



De l'importance de la mémoire épigénétique du père sur sa descendance

L'épigénétique, du grec ancien *épi*, « au-dessus de », et de *genno*, « donner naissance » est « la discipline de la biologie qui étudie les mécanismes moléculaires appelés à moduler l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte ». En modifiant chimiquement l'ADN et les protéines (histones) qui lui sont associées au niveau des chromosomes, les modifications épigénétiques contrôlent l'expression des gènes humains et participent ainsi à la spécialisation des cellules. De tels mécanismes expliquent de quelle façon, alors que l'ADN ne se modifie pas d'une division à l'autre, les cellules acquièrent leurs fonctions spécifiques. Cette information épigénétique est transmissible lors de la mitose et/ou de la méiose, mais ne découle pas de modifications dans la séquence de l'ADN. Selon une étude, récemment publiée dans la revue *Science*, la façon de vivre et l'environnement du père joueraient un rôle important dans le développement du fœtus, et vraisemblablement même de sa descendance... Mais, comment le père peut-il transmettre ces marques épigénétiques alors qu'elles devraient être effacées au cours du développement de l'embryon ? Les chercheurs canadiens, auteurs de cette étude, ont montré que la surexpression de

la protéine histone humaine *H3 Lysine 4 (H3K4) demethylase* KDM1A au cours de la spermatogenèse chez des souris transgé-

Des modifications épigénétiques induites au cours de la spermatogenèse chez le père influeraient sur le développement du fœtus et de sa descendance.

niques conduisait à une modification de la survie et du développement des embryons. De façon très intéressante ces défauts persistaient pendant plusieurs générations en l'absence de modification d'expression de *KDM1A* mais était associée à un profil d'expression de l'ARN altéré au niveau du sperme des descendants.

Les auteurs en ont conclu que la transmission épigénétique de l'altération du développement des souriceaux était ini-

tiée par l'activité de l'histone-déméthylase au cours de la spermatogenèse sans pour autant que cela soit associé à une modification de la méthylation des îlots CpG de l'ADN. Les auteurs suggèrent également qu'un remodelage subtil mais constant de l'héritage épigénétique pourrait participer à l'adaptation d'un individu à de nouvelles conditions de vie.

Le mode de vie paternel ne pourrait-il donc pas avoir un retentissement sur la santé de ses enfants et petits-enfants à venir ? De nombreuses études récentes suggèrent en effet que des signatures épigénétiques particulières retrouvées dans le sperme du père seraient associées à des risques augmentés de diverses pathologies. À une époque où la grossesse des femmes est assujettie à de nombreux « interdits », alimentaires et comportementaux, les papas en puissance ne devraient-ils pas se préparer, eux aussi, à la conception de leur futur bébé en prenant soin de leur santé et de leur mode de vie ! Et si l'homme devenait l'avenir de la femme... ■■

Siklenka K, et coll. *Science* 2015 Nov 6;350(6261). doi: 10.1126/science.aab2006. Epub 2015 Oct 8.

L'horloge circadienne des cellules souches leucémiques, approche thérapeutique ?

Les cellules souches leucémiques (CSL) sont des cellules capables de redonner naissance à la leucémie d'origine lors de leur xénotransplantation sur des souris immunocompétentes.

Au cours des leucémies aiguës myéloïdes (LAM), les CSL sont d'origine myéloïde, et les progéniteurs des lignées myéloblastiques, érythroblastiques ou mégacaryocytaires, bloqués à un stade plus ou moins avancé de maturation, prolifèrent de façon clonale dans la moelle osseuse et le sang. Plusieurs études récentes ont montré que des altérations de facteurs de transcription sont très vraisemblablement responsables de cette prolifération clonale. Si l'on veut éradiquer la maladie, ce sont avant tout les

CSL qu'il faut cibler sur le plan thérapeutique puisqu'elles sont à l'origine de la maladie. Cependant, ceci se révèle difficile car, de la même façon que les cellules souches normales, les CSL sont quiescentes et donc difficilement accessibles aux molécules chimio-thérapeutiques, majoritairement actives sur les cellules en prolifération.

Une étude américaine, qui vient d'être publiée ce mois d'avril 2016 dans la revue de haut niveau *Cell*, rapporte que, comme les cellules souches hématopoïétiques (CSH) normales, les cellules souches leucémiques présentent un rythme circadien interne (rythme d'environ 24 heures).

C'est en recherchant, par des techniques d'exploration *in vivo* dans un modèle murin

de LAM (MLL-AF9), des gènes exprimés par les CSL et participant à leur prolifération que les auteurs ont mis en évidence l'expression de *Bmal1* et de *Clock*, deux facteurs de transcription formant un hétérodimère qui active la transcription de gènes de l'horloge circadienne.

Ils ont également montré qu'une rupture du rythme circadien produisait un effet anti-leucémique en ciblant les CSL et en modulant leur auto-renouvellement et en induisant leur différenciation, suggérant l'influence du rythme circadien sur la « fonction souche » des CSL.

Les auteurs ont ensuite confirmé leur rôle sur des souris génétiquement modifiées où ces gènes n'étaient plus exprimés dans

les cellules sanguines, dites hématopoïétiques. De façon surprenante, alors que ces CSH pouvaient survivre en absence de *Bmal1*, les CSL ne le pouvaient plus. Cette dépendance vis-à-vis de *Bmal1* suggérerait que les CSL étaient plus sensibles que les CSH à un blocage du cycle circadien. C'est ce que les auteurs ont démontré en traitant *in vitro* les cellules souches normales et leucémiques murines, mais également humaines, avec un antagoniste du récepteur nucléaire REV-ERB, un oscillateur moléculaire régulant *Bmal1*. Bien que les raisons de cette différence de sensibilité des cellules normales et leucémiques vis-à-vis de l'inactivation

de *Bmal1* ne soient pas encore connues, il est possible que des mécanismes de compensation y participent. Ces résultats sont particulièrement intéressants sur le plan thérapeutique car ils suggèrent qu'une rupture du rythme circadien altère la croissance de cellules leucémiques en induisant leur différenciation *in vivo*, sur la souris et *in vitro*, dans des lignées leucémiques myéloïdes humaines. Bien qu'il soit nécessaire de rechercher, entre autres, si de telles différences de rythmicité entre les CSH normales et leucémiques existent *in vivo* chez l'Homme, de comprendre les mécanismes qui contrôlent ces différences et

de rechercher si ce processus est spécifique des CSL de LAM, l'exploitation de tels résultats en thérapeutique est très séduisante.

En effet, la chronothérapie, qui consiste à traiter les patients à certaines heures de la journée pour améliorer l'efficacité du médicament tout en réduisant sa toxicité, apparaît de plus en plus prometteuse, en particulier pour les traitements en oncologie. Apprenons à *utiliser le temps comme outil*, comme le disait John Fitzgerald Kennedy.... ■

Puram RV, et coll. *Cell*. 2016 Apr 7;165(2):303-16. doi: 10.1016/j.cell.2016.03.015.

Diabète gestationnel précoce et risque obstétrical

Une étude présentée par une équipe australienne évoque les risques obstétricaux des femmes enceintes développant un diabète gestationnel (DG) : plus il apparaît précocement, plus les femmes enceintes auraient un risque de pré-éclampsie, d'accouchement avant-terme et de césarienne, et l'enfant un risque d'ictère néonatal.

Pour Arianne N. Sweeting et coll. (*Diabetes Center, Royal Prince Alfred Hospital, Sydney*), le diagnostic précoce de DG dans les 12 premières semaines de la grossesse expose les femmes à une plus forte incidence de ces complications par rapport aux femmes dont le DG est diagnostiqué plus tard, ceci indépendamment de la précocité du diagnostic et du traitement intensif.

Une étude multiethnique chez des femmes enceintes à haut risque a permis de constater que ce risque élevé d'évolution péjorative ne s'explique pas par un diabète de type 2 préexistant, diagnostiqué au début de la grossesse. L'étude montre que malgré l'intervention thérapeutique intensive, le DG précoce chez les femmes à haut risque est associé à une évolution suboptimale et que ce risque plus élevé est associé à une perturbation de la glycémie plus préoccupante que lors de la grossesse d'une femme diabétique.

Les auteurs ont analysé les données concernant 4873 femmes suivies dans une consultation clinique de diabétologie prénatale entre 1991 et 2011. Dans

cette cohorte, 65 femmes avaient un diabète de type 2 pré-existant (âge moyen 35 ans ; Asiatiques : 29 %, 84 % avec histoire familiale de diabète) ; 68 femmes ont été diagnostiquées d'un DG dans les 12 premières semaines de la grossesse (âge moyen 35 ans ; 35 % Blanches ; 62 % avec histoire familiale de diabète) ; 1247 ont eu un diagnostic de DG entre 12 et 23 semaines de gestation ; (âge moyen

Un diabète gestationnel avant 12 semaines, situation à risque pour l'enfant à naître.

35 ans ; Asiatiques 47 %, 58 % avec histoire familiale de diabète) ; 3493 diagnostiquées d'un DG à 24 semaines ou plus de gestation (âge moyen 33 ans ; 38 % d'Asiatiques ; 48 % avec histoire familiale de diabète).

Les femmes ayant un diabète pré-existant (25,9 %) et un DG diagnostiqué dans les 12 premières semaines de la grossesse (16,7 %) ont donné naissance à des enfants avant terme ou prématurés par rapport aux femmes diagnostiquées entre 12 et 23 semaines (11,2 %) et aux femmes diagnostiquées à 24 semaines ou plus (6,4 %). De plus, les femmes

ayant un diabète pré-existant (34,6 %) et un DG diagnostiqué dans les 12 premières semaines de la grossesse (26,3 %) avaient un taux élevé de pré-éclampsie vs les femmes diagnostiquées entre 12 et 23 semaines (13,8 %) et les femmes diagnostiquées à 24 semaines et plus (11,2 %).

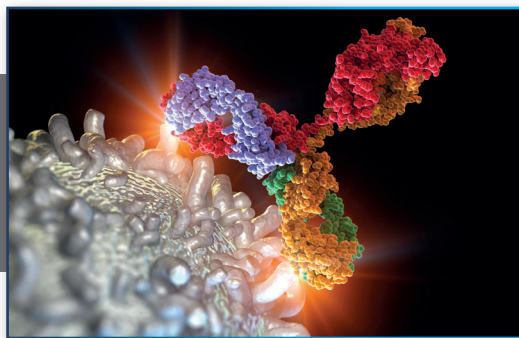
Les femmes avec diabète de type 2 pré-existant ont eu un taux plus élevé de césariennes (57,9 %), suivies par les femmes diagnostiquées d'un DG entre 12 et 23 semaines (36,2 %), les femmes diagnostiquées dans les 12 premières semaines de grossesse (30,7 %) et les femmes diagnostiquées à 24 semaines ou plus (28,1 %). Chez les femmes avec diabète pré-existant et DG précoce on a noté les taux les plus élevés d'ictère néonatal (41,7 % et 28,1 % respectivement), une macrosomie (21,8 % et 20,3 % respectivement) et d'enfant très gros pour l'âge gestationnel (39,6 % et 32,8 % respectivement) vs les femmes diagnostiquées d'un DG plus tard au cours de la grossesse.

Le taux d'admissions en soins intensifs néonataux a été le même dans les 4 groupes de femmes. ■

Gestational Diabetes Mellitus in Early Pregnancy: Evidence for Poor Pregnancy Outcomes Despite Treatment, Arianne N. Sweeting et coll. *Diabetes Care*, online 8/12/2015, doi: 10.2337/dc15-0433.

Actualités en immunologie: quel programme !

Marie-Nathalie Kolopp-Sarda^{a,b}, Alain Chevailler^c



AVANT-PROPOS

Les nouveautés en immunologie, vaste programme, que malheureusement nous ne pourrions vous exposer de manière exhaustive dans ce numéro ! Néanmoins, vous allez découvrir quelques nouveaux centres d'intérêt dans le domaine de l'immunologie et en particulier dans le domaine de l'immunologie des muqueuses.

Les muqueuses, et la peau, sont plus connues des histologistes, des gastroentérologues, des pneumologues, des dermatologues et autres spécialistes, que par les immunologistes. Et pourtant,

c'est par elles que nous sommes en contact constant avec notre environnement et avec tous les antigènes avérés et potentiels que nous respirons, que nous ingérons, que nous touchons. Quand nous y pensons, sommes-nous vraiment souvent malades ? Aussi souvent que d'antigènes que nous rencontrons ? Non, nos muqueuses et notre peau nous protègent, c'est la notion que nous avons, mais surtout nous permettent de nous adapter à notre environnement, de tolérer les antigènes tolérables et d'éliminer les antigènes pathogènes.

Comme le montrent Gilles Renier et coll. et Marie Nathalie Kolopp-Sarda dans leurs articles sur le poumon et l'intestin, notre capacité à tolérer notre environnement et à nous adapter tient à notre système immunitaire associé aux muqueuses, plus que notre système immunitaire général, pourtant plus étudié et plus enseigné... Mais nous ne sommes pas seuls dans cette opération, nos microbiotes pulmonaire, Gilles Renier nous le décrit, et intestinal interviennent dès la naissance et tout au long de notre existence : un équilibre entre notre système immunitaire et notre microbiote se met en place et s'adapte pour une homéostasie parfaite de notre organisme...

Mais... la tolérance est parfois mise à mal, cet état physiologique d'homéostasie peut devenir pathologique dans le cadre des maladies inflammatoires de l'intestin (MICI). L'article de

a Laboratoire d'Immunologie

Centre Hospitalier Lyon Sud
165 chemin du Grand Revoyet
69495 Pierre Bénite

b EA 4130, Immunogénomique et Inflammation

Université Claude Bernard Lyon 1

c Laboratoire d'immunologie et d'allergologie

Département d'hématologie et d'immunologie
Plateau de biologie hospitalière (PBH)
Institut de biologie en santé (IBS)
Centre hospitalier universitaire d'Angers
49933 Angers cedex 09
AlChevailler@chu-angers.fr

* Correspondance

marie-nathalie.sarda@chu-lyon.fr

Alexandre Jentzer et coll rapporte l'impact de l'inflammation des muqueuses intestinales dans le cadre des MICI. Ils décrivent les marqueurs biologiques, connus et nouveaux, de diagnostic et de suivi de l'évolution, ainsi que les méthodes de suivi des biothérapies appliquées à ces pathologies.

Les muqueuses, c'est également des réponses humorales : nos immunoglobulines sont décrites depuis le début du XX^e siècle pour les IgG jusqu'en 1966 pour les IgE. Mais la nomenclature de ces glycoprotéines est bien plus récente que la connaissance de leurs propriétés physicochimiques et de leur structure : pourquoi parlons-nous d'IgG, d'IgA, d'IgM, d'IgD et d'IgE ? Quelques lignes d'histoire par Marie Nathalie Kolopp-Sarda et Gilbert Faure vous donneront la réponse.

Puis les immunoglobulines vous seront décrites comme l'histoire du *Dr Jekyll and Mister Hyde* : un bon et un mauvais côté... Grégoire Cozon nous parle du bon côté des IgG polyvalentes avec leur application thérapeutique, mais Stéphane Durupt et coll. nous décrivent le syndrome hyper-IgG4, caractérisé par une élévation sérique des IgG de cette sous-classe et des atteintes multi-organes.

Bonne lecture !

Sommaire thématique

- Microbiotes, poumon et aménagement des interfaces. Nouveaux regards sur l'immunologie, et peut-être l'homme? **p. 27**
- Système immunitaire muqueux et microbiote intestinal : histoire d'une symbiose **p. 39**
- Nouveaux marqueurs diagnostiques et pronostiques des maladies inflammatoires intestinales **p. 49**
- Pourquoi IgG, IgA, IgM, IgD et IgE? **p. 57**
- Immunoglobulines G humaines polyvalentes : utilisation thérapeutique en 2016 **p. 59**
- La maladie associée aux immunoglobulines G4 **p. 65**
- QCM **p. 74**

La coordination de ce dossier a été assurée par le Dr Marie-Nathalie Kolopp-Sarda, Laboratoire d'immunologie, Centre de biologie Sud, Centre hospitalier Lyon-Sud de Pierre-Bénite.

Microbiotes, poumon et aménagement des interfaces. Nouveaux regards sur l'immunologie, et peut-être sur l'homme ?

Gilles Renier^{a,b}, Caroline Poli^{a,c}, Céline Beauvillain^{a,c}, Alain Chevaillier^{a,c}

RÉSUMÉ

S'intéresser au monde des microbiotes suppose d'abord d'essayer de discerner les limites et difficultés des méthodes en permettant l'étude. Au niveau pulmonaire, le microbiote semble être chez le sujet sain une expansion essentiellement bronchique de celui de l'oropharynx, cantonnée par l'épuration muco-ciliaire et la pauvreté des ressources disponibles localement. Les circonstances pathologiques agiront en favorisant une expansion plus ou moins globale et/ou une modification de sa répartition pouvant aller jusqu'à une perte de sa diversité. La pauvreté naturelle de ce microbiote nous incite, d'une part, à reconsidérer l'organisation de nos sociétés, inadaptée par sa concentration des individus ; et d'autre part, pour l'immunologiste, l'incite à reconsidérer l'aménagement des interfaces de notre organisme avec son environnement et à repenser le système immunitaire, et l'enseignement de la discipline, en ouvrant peut-être ainsi une nouvelle période dans l'histoire de la discipline.

Interfaces - microbiotes - muqueuses - poumon.

SUMMARY

Microbiota, lung and interfaces management. New views on Immunology, and may be on humans ?

Taking interest in microbiotas world needs first to deal with methodological limits and pitfalls. In the lung area, microbiota seems an expansion, basically bronchial, of the oropharynx one, and limited by mucociliary clearance and nutrient poverty. Pathological conditions lead to a somewhat global richness increase, and/or composition alterations that can end in a loss of diversity. The natural lowness of this microbiota, first, incites us to rethink our society's organization, inadequate by its individual's concentration ; second, incites immunologists to reconsider body interfaces with environment, and to rethink immune system and Immunology teaching, possibly opening in this way a new era in this science story.

interfaces - microbiota - mucosa - lung.

1. Introduction

Que peut-on apporter à des allergologues qui vous interrogent sur « poumon et microbiote » (réunion de la SAICO du 4 décembre 2014) lorsque l'on n'est ni pneumologue, ni microbiologiste, ni spécialiste de l'immunité muqueuse, mais seulement un immunologiste de routine hospitalière ? Probablement d'abord un effort de rigueur pour essayer de décrypter les méthodes et les résultats obtenus, et ensuite sa capacité à répondre à côté de la question posée (ce qui fait partie du métier) et aller explorer ce que cela peut signifier pour la défense des frontières.

a Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie

CHU d'Angers, Angers

Cedex 09, F-49933 France

b Université d'Angers, UPRES EA 3142, Angers, F-49933 France

c Université d'Angers

Inserm, Unit 892, Angers, France

CNRS, Unit 6299, Angers, France

LabEx IGO «Immuno-Graft-Onc», Angers, France

* Correspondance

renigi@chu-angers.fr

L'approche est alors de se concentrer sur l'organe lui-même et ses particularités, et s'en servir comme d'un fil conducteur. Auparavant réputé stérile, à la lumière d'une microbiologie classique reposant sur des techniques de culture, le poumon ne peut être que propice à nourrir la réflexion. D'abord sur les nouvelles méthodologies, et en particulier leurs limites et difficultés, puisqu'elles conditionnent entièrement l'idée que l'on peut se faire de la réalité à partir des résultats obtenus. Ensuite seulement viennent les questions sur la connaissance et ses conséquences : existe-t-il un microbiote pulmonaire ? Quelle est sa composition ? Comment se constitue-t-il ? À partir de quel moment ? Quel est son rôle et en quoi cela peut-il modifier notre regard sur l'aménagement des frontières de notre organisme ? Et donc sur le Système Immunitaire, voire sur l'homme ? Ceci impose de replacer l'émergence de ces nouvelles données en perspective entre Immunologie et Microbiologie.

2. Une histoire de méthodes

2.1. Microbiologie et immunologie, des jumelles en regard des agents infectieux.

On peut probablement considérer que, même si elles plongent leurs racines dans la nuit des temps, la Microbiologie et l'Immunologie naissent véritablement à l'époque

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

de Louis Pasteur : pressentie de très longue date comme le montrent les masques utilisés par les médecins du Moyen-Âge lors des « pestes », c'est-à-dire des épidémies, la notion de germes devient alors palpable ; et leur culture permet leur atténuation pour en faire un outil de vaccination. Le constat d'immunité (du latin « *immunitas* » : exemption) face à la maladie infectieuse ouvre ainsi la porte à la manipulation et à l'analyse des moyens de la protection, ce qui conduit à la description du système immunitaire et de ses rôles ; l'Immunologie est née. Et parallèlement, la Microbiologie se développe autour de l'identification d'espèces cultivables en pathologie. De cette orientation initiale vers les maladies infectieuses, notamment humaines, a résulté une image éminemment négative des bactéries et des micro-organismes en général, dont témoigne la stérilisation à tous crins. Cependant, il n'est peut-être pas anodin de constater qu'en se centrant sur la description et l'étude des micro-organismes, la microbiologie s'est aussi trouvée secondairement en position d'ouverture sur le monde, et en particulier, sur l'écologie microbienne de l'environnement avec toute sa diversité ; pour en retour aujourd'hui s'affronter à l'écologie des territoires de l'organisme humain, avec des approches similaires. La notion de « flores commensales » qui sous-tend déjà une notion de bonne entente, va laisser la place au « microbiote », collection des espèces microbiennes (bactéries, virus, champignons...) présentes dans un environnement. Le terme « microbiome » est aussi utilisé, mais d'une façon hétérogène rendant sa définition délicate, floue et ambiguë ; la plus neutre serait probablement : ensemble du microbiote pris avec ses produits et son environnement [1].

En se centrant à l'inverse sur la description et l'étude des réactions de protection de l'hôte, en confrontant ses propres données avec chaque domaine de la pathologie notamment humaine, l'Immunologie a gardé cette démarche initiale d'essayer de relier causes et conséquences pour en manipuler la séquence. Ce faisant, son champ d'étude a débordé de la protection vis-à-vis des agressions extérieures pour prendre en compte la gestion de l'organisme lui-même et de ses déchets. Un bon exemple de cela est de voir l'auto-immunité s'inviter au sein des déficits immunitaires, pourtant définis autour de l'infection [2, 3]. Parallèlement, et au même titre que la médecine interne et l'allergologie, elle s'est placée en superposition avec l'ensemble des autres disciplines médicales, en apportant son propre point de vue en contrepoint de celui des « spécialités » organisées autour de la logique propre des organes ou tissus particuliers. Pour progresser, l'Immunologie décortique inlassablement chacune des composantes de nos mécanismes de défense et de régulation, et s'efforce de conceptualiser l'intégration de chacune d'entre elles dans une vision globale et cohérente : le Système Immunitaire. Ce dernier peut ainsi être défini aujourd'hui comme « l'ensemble des moyens et interactions préservant le bon état fonctionnel de l'organisme » ; et une fois encore, il se trouve en superposition avec l'ensemble des composantes de l'organisme. Conformément à la théorie du « soi » et du « non soi » énoncée par Frank Macfarlane Burnet [4], le terme de « flores commensales » convenait bien à l'Immunologiste puisqu'il marque qu'elles appartiennent à « l'autre extrahumain », qui certes « mange avec nous » mais relève toujours du « non soi ».

Les progrès dans la connaissance des « microbiotes », viennent aujourd'hui remettre sur le devant de la scène l'étroite parenté entre microbiologie et immunologie. Elle s'impose à nous et interroge sur le bien-fondé des schémas actuels de réorganisations hospitalières, ou de certaines hypothèses saugrenues concernant l'évolution de la formation des biologistes. Et pour l'Immunologiste, avec son besoin d'émettre et examiner des théories pour progresser, ces nouveautés ne peuvent que le conduire à examiner comment elles impactent son regard sur le monde et sur sa discipline. Le poumon apparaît suffisamment vierge de préconceptions pour servir de fil conducteur dans cette optique et le terme de microbiote restitue un statut de neutralité aux mondes microbiens qui vivent avec nous.

2.2. Les prismes du kaléidoscope [1,5,6]

Comme toujours, la connaissance dépend des moyens disponibles et c'est parce qu'il a su construire des « microscopes » capables d'un grossissement approchant les 300 fois et d'une résolution de 1,4 micron que la première description d'une communauté de micro-organismes, notamment au niveau de la plaque dentaire et des selles, revient probablement au drapier hollandais Antoni van Leeuwenhoek, dès 1683 [7]. Puis, à partir du dernier quart du XIX^e siècle, l'essor des méthodes de culture, de coloration et d'analyse du métabolisme permettra la description d'espèces, notamment pathogènes, et leur identification en pratique quotidienne. En dépit des progrès qu'ils pouvaient faire dans ces axes méthodologiques, les microbiologistes mesureront ensuite progressivement les limites inhérentes à ces techniques, que ce soit en pathologie, comme le montre la maladie de Whipple, ou dans l'analyse des « flores commensales ».

L'émergence de la biologie moléculaire est venue apporter de nouvelles approches. Un tournant décisif est ainsi franchi lorsque l'équipe de Carl R. Woese et George E. Fox entreprend la caractérisation de l'ARN 16S ribosomal (ARNr 16S) d'une série d'espèces procaryotes, dont certaines méthanogènes non cultivables, et de l'ARNr 18S d'eucaryotes. Leurs résultats sont conceptuellement révolutionnaires parce qu'ils établissent d'une part une vision phylogénétique du monde vivant procaryote et d'autre part l'individualisation des archées (Archaea) comme un troisième domaine du vivant indépendant, à côté des eubactéries d'une part (au sein des procaryotes), et d'autre part des eucaryotes [8, 9]. Cette approche d'utiliser un séquençage de l'ARN 16S est aussi une révolution méthodologique puisqu'elle va permettre de décrire et classer les espèces en s'affranchissant de la culture. L'ARN 16S en tant que constituant de la petite sous unité des ribosomes qui servent à fabriquer les protéines, est en effet par construction présent dans toute cellule, et caractéristique de celle-ci car non soumis aux échanges génétiques transversaux entre cellules. C'est aussi un « gardien du temps », son gène associant des régions dont les niveaux de diversité sont différents ce qui permet de résoudre diverses échelles de temps évolutifs. Au surplus, ses régions de faible diversité ont permis de développer des amorces de PCR permettant la détection d'à peu près toutes les eubactéries et archées sans se préoccuper de leur culture. Le séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S a ouvert l'accès non seulement à l'étude des micro-

organismes non cultivables mais aussi à l'exploration de l'écologie microbienne. La coexistence de régions conservées, utilisées pour lier les amorces des cycles d'amplification, et de séquences variables, que l'on va séquencer après leur amplification, va permettre en effet d'identifier et de quantifier chacune des diverses variantes de la séquence étudiée que l'on peut observer dans un échantillon. Chacune sera positionnée en fonction de ses similitudes dans l'arborescence taxonomique des espèces, et donc cataloguée dans les bases de données en tant que « *Organising Taxonomic Units* » (OTU); une partie d'entre elles correspondant à des espèces bactériennes déjà connues. Cette méthode profite de ce que l'ARN ribosomal n'est pas 16S mais 18S chez les eucaryotes; mais elle n'apporte guère d'informations fonctionnelles ou sur les micro-organismes non bactériens [1]. Les progrès technologiques, qui se sont accompagnés d'une chute drastique des coûts analytiques, ont finalement permis le développement de nouveaux champs méthodologiques: la «méta-génomique» vise à analyser l'ensemble des génomes présents (qui est là?), la «méta-transcriptomique» vise à analyser l'ensemble des ARN transcrits présents (qui fait quoi?), et la «méta-bolomique» et la «méta-protéomique» visent à analyser l'ensemble des produits présents (qu'est-il produit là?). L'importance potentielle de ces nouveaux champs vient notamment de ce que la présence de l'ADN d'un micro-organisme ne renseigne pas en soi sur sa viabilité. Un exemple de représentation schématique de l'articulation de ces diverses approches peut être trouvé dans la figure présentée dans l'article récemment publié par Chung Owyang [10].

2.3. Les limites du kaléidoscope [1,5,6,11,12]

Il convient de garder en mémoire que l'observation n'est pas directe mais que l'on regarde les choses au travers d'un kaléidoscope de méthodes dont l'usage et les prismes sont confrontés à de nombreuses limites et difficultés (tableau I). Et il est évidemment important d'essayer de les recenser et de les prendre en compte avant de s'intéresser aux résultats. Certaines sont strictement méthodologiques. Elles peuvent porter sur la réalisation du prélèvement ou sur les techniques d'analyse. Dans ces deux cas un risque majeur est celui de la contamination: cellules humaines, souillures microbiennes de laboratoire, etc. Se pose ensuite la question de la qualité de l'extraction de l'ADN, et de son uniformité, les espèces Gram+ et Gram- n'étant pas égales sur ce plan. La méthodologie choisie peut ensuite entraîner également une distorsion dans la représentation relative des diverses espèces. Le séquençage des segments variables V1 à V3 ou V3 à V5 du gène de l'ARNr 16S peut ainsi donner des résultats différents [5]. D'autres sont liées à la masse considérable des données à traiter, avec la nécessité d'algorithmes pour filtrer les données afin d'éliminer le bruit de fond, normaliser les échantillons, définir ce qu'on range dans un même OTU ou rattacher une séquence dans l'arborescence taxonomique. D'où une préoccupation liée aux logiciels et aux bases de données disponibles, ainsi qu'aux outils bio-statistiques utilisables pour calculer diversités et similarités, etc., ou à la façon dont on peut appréhender et présenter les résultats. D'une façon générale, la diversité des méthodes, y compris dans l'analyse statistique et la présentation des résultats, est une

Tableau I – Les difficultés et limites du kaléidoscope.

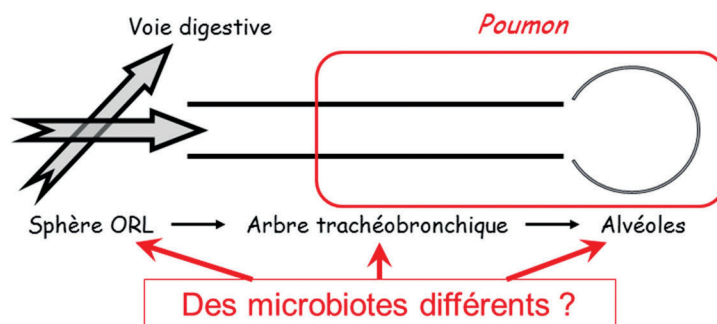
Liées au recueil des données
• Contaminations : - au prélèvement : microbiennes ou liées à l'hôte - au laboratoire • Qualité de l'extraction d'ADN / ARN • Distorsions méthodologiques de représentation : (le résultat varie avec ce que l'on regarde) • Distinguer morts et vivants ?
Liées à la masse des données
• Dépendance des logiciels et bases de données • Difficulté d'intégrer les données des méta...omiques • Finesse de l'analyse et lisibilité de sa représentation
Liées à l'interprétation des données
• Que représente vraiment l'échantillon ? • Définir un « normal » collectif ? • Réfléchir en communauté microbienne et plus en germe ? • Réfléchir en dynamique microbienne ?
Limites inhérentes à la méthodologie
• Absence de données topographiques précises • Nécessité d'approches fonctionnelles expérimentales associées • Faiblesse des informations orientées vers les éléments non bactériens

source notable de variabilité expérimentale [5]. Un logiciel ne peut que répercuter dans les résultats produits, les concepts et biais qui ont présidé à sa programmation. La pertinence de l'interprétation pourra également dépendre du niveau de finesse de l'analyse: l'expérience du passé a montré que par exemple le genre *Haemophilus* rassemble des espèces commensales comme *H. haemolyticus* et *H. parainfluenzae* aussi bien que pathogène comme *H. influenzae*; et que de plus la virulence peut varier selon les souches.

Un autre aspect est de changer de point de vue: abandonner un raisonnement centré sur la culture objective de la bactérie potentiellement pathogène pour une lecture s'appuyant sur une représentation relative d'une diversité de microorganismes. A cela s'ajoute, pour le clinicien et les autres biologistes, une difficulté à appréhender ce qu'est réellement une espèce bactérienne dans ce monde fluctuant échangeant des composantes génétiques. Ne pas prendre en compte d'éventuelles composantes virales et eucaryotes (fongique notamment), risque en outre de donner une vision partielle et tronquée de la réalité. Probablement faudra-t-il aussi apprendre à réfléchir en termes de dynamique microbienne: modulation de la virulence, succession séquentielle d'espèces, résistance, résilience... Peut-être le meilleur antibiotique n'est-il pas celui qui détruit le mieux le pathogène, mais celui qui préserve le mieux le microbiote, certaines composantes pouvant mettre des années à se reconstituer? [13].

Deux ordres d'informations peuvent être obtenus: quantitatives, sur la masse globale des microorganismes, et qualitatives sur leur répartition, la représentation relative de chacun de ceux qui sont présents, ce que l'on peut aborder par une dualité, diversité générale et équilibre *versus* prédominance de certains représentants. La diversité peut être évaluée à l'intérieur d'un même échantillon (diversité alpha) ou comparée entre plusieurs échantillons

Figure 1 – Le poumon : un organe exemplaire des difficultés et interrogations liées au prélèvement dans l'étude des microbiotes.



Artefact ou réalité ? Comment prélever sans contamination ?

*Crachats ? Lavage Broncho alvéolaire ?
Bronchoscope double
Echantillonnage d'explants de transplantation*

**Contamination
par les voies
aériennes
supérieures**

Interpréter sans prélever l'environnement ?

(diversité bêta) [1]. La représentation de ces données de façon compréhensible est complexe, avec un compromis à trouver entre finesse et lisibilité, par exemple dans une arborescence taxonomique. La seconde figure présentée par Morgan et al. [1] en est un bel exemple. Définir ce que pourrait être un microbiote « normal » est également problématique si l'on considère que par exemple au niveau digestif très peu de taxons parmi des milliers seraient partagés par 95 % des individus d'une population [1]. Le poumon (figure 1) est exemplaire de ces difficultés méthodologiques, notamment liées au prélèvement [5] : le cheminement naturel passe en effet par les voies aériennes supérieures, partie prenante de la sphère ORL où elles croisent en particulier la voie digestive, puis par une arborescence trachéo-bronchique se ramifiant jusqu'aux bronchioles, avant d'arriver aux alvéoles. Ce long enchaînement anatomique peut amener à s'interroger sur la possibilité de définir un microbiote pulmonaire comme un concept unique ou au contraire diversifié selon l'étage considéré. Une autre question confronte « artefact » et « réalité ». Répondre à la question « le poumon est-il stérile, et jusqu'où ? » suppose de déterminer comment obtenir, de façon éthiquement acceptable, un échantillon non contaminé et utilisable. On sait très bien par exemple que les prélèvements de crachats sont contaminés lors de l'expectoration. De même, l'introduction d'un bronchoscope va s'accompagner de l'entraînement d'éléments provenant des voies aériennes supérieures et venant polluer les échantillons de lavage broncho-alvéolaire recueillis ; ceci nécessitera d'être pris en compte et minimisé par une procédure particulière [14]. On peut probablement établir une gradation dans les risques de contamination inhérents à chaque méthode de recueil ; la plus stérile étant probablement l'échantillonnage d'explants de transplantation (laquelle pose d'autres difficultés comme d'accéder à des poumons sains). Un autre écueil, parallèle

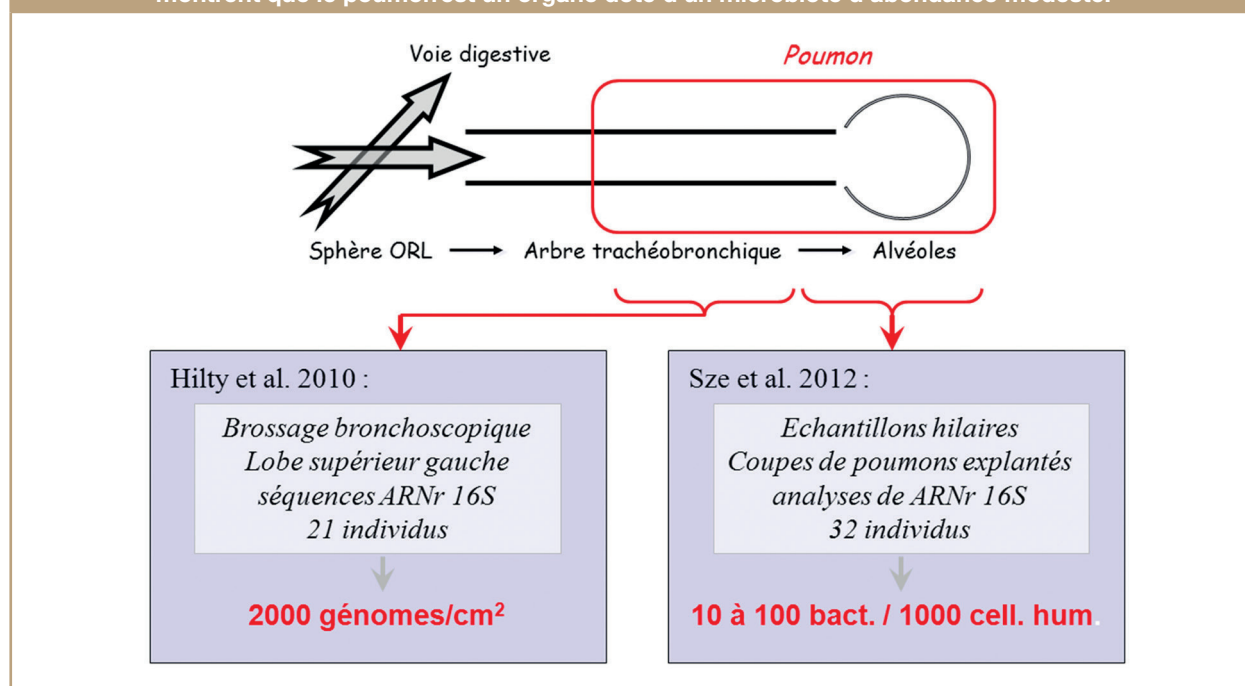
au précédent, est la très grande prépondérance quantitative de l'ADN humain dans les biopsies pulmonaires, ce qui rendra difficiles les études métagénomiques [6]. Cette difficulté particulière liée au prélèvement est probablement une des raisons pour lesquelles les premières études du « human microbiome project » ont porté sur des sites plus accessibles : bouche, nez, peau et selles.

Une autre interrogation pourrait être de savoir si l'on peut interpréter le microbiote pulmonaire sans prélèvement parallèle de l'environnement : l'abondance bactérienne dans l'air ambiant des grands magasins parisiens n'a évidemment rien à voir avec l'air pur des montagnes ; de même, l'écologie microbienne des poussières diffère selon la présence ou non d'animaux familiers [5].

2.4. Des avancées vers le passé

Dresser des catalogues de germes présents dans un échantillon ne peut naturellement suffire à connaître et comprendre nos microbiotes et leurs interactions avec leur environnement. Cette exploration globale d'un prélèvement explanté ne peut ainsi renseigner sur la localisation précise de ses composantes, et c'est à la microscopie que l'on doit ce constat que certains éléments particuliers s'installent directement au contact de la muqueuse digestive, sous le mucus - qu'en est-il au niveau du poumon ? Des expériences de mutagenèse ont montré que quarante-sept gènes étaient impliqués dans l'implantation de *Lactobacillus casei* [15]. Et de nouvelles méthodologies de culture dédiées, la mise au point d'organoïdes, visent à démêler comment ces espèces particulières s'établissent et fonctionnent au fond de nos cryptes intestinales [16, 17]. Des approches plus classiques gardent ainsi toute leur pertinence et peuvent retrouver une nouvelle jeunesse. Et par ailleurs, depuis de nombreuses années déjà, l'exploration

Figure 2 – Au moins deux études limitant au mieux les risques de contamination montrent que le poumon est un organe doté d'un microbiote d'abondance modeste.



de l'écologie microbienne, notamment du tube digestif, s'appuie également sur des expérimentations avec des animaux qui peuvent être axéniques (« stériles »), holoxéniques (librement exposés) ou gnotoxéniques (hébergeant une flore connue), et qui offrent l'opportunité d'examiner l'impact de l'installation d'un microbiote donné [18].

3. Microbiote et poumon

3.1. Un microbiote pour le poumon ?

Jusqu'à une période récente, la vision commune était que le poumon était stérile. Cependant cette idée est aujourd'hui confrontée aux résultats d'un nombre croissant d'études chez le sujet sain comme dans diverses situations pathologiques. Le sujet est en pleine actualité comme en témoigne le supplément spécial édité par les *Annals of the American Thoracic Society* en 2014 ; la difficulté est de sélectionner les travaux démonstratifs pour lesquels la certitude ou probabilité d'une absence de contamination est la plus élevée possible. Au moins deux études nous semblent pleinement satisfaire à cet impératif (*figure 2*) :

- la première [19] étudie les séquences d'ARNr 16S dans des prélèvements obtenus par brossage bronchoscopique du lobe supérieur gauche chez 24 individus : 5 BPCO (Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive), 11 asthmatiques et 8 sujets sains. Elle évalue la densité microbienne à 2000 génomes/cm² ce qui selon les auteurs serait comparable au tiers supérieur de l'intestin.

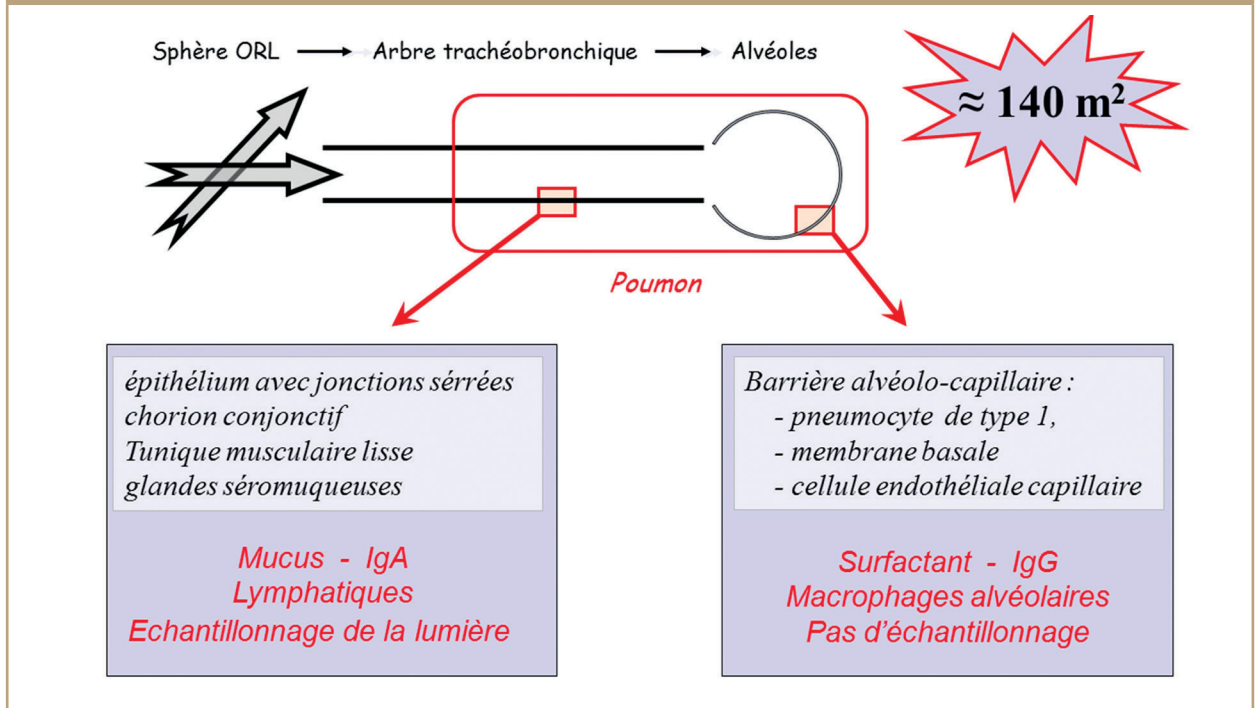
viscidoses très sévères ; 6 échantillons d'eau stérile servant de témoins négatifs. Elle évalue la densité microbienne à 10 à 100 bactéries pour 1 000 cellules humaines ; valeurs proches du seuil de détection de leur méthode.

Ces deux études apportent une preuve convaincante de la présence d'un microbiote pulmonaire ; et avec certitude au niveau de l'arbre bronchique. Les données sont par contre moins convaincantes au niveau des alvéoles puisque ceux-ci prédominent mais ne sont pas la composante exclusive dans les échantillons recueillis par la seconde étude, alors que la première n'évalue pas cette composante anatomique. L'interface pulmonaire de l'organisme renferme en réalité deux variétés structurales et fonctionnelles complètement différentes, avec une zone de transition entre elles (*figure 3*) :

- d'un côté, l'arborescence bronchique, issue d'une évagination antérieure de la voie digestive, partage avec celle-ci une paroi muqueuse épaisse avec production de mucus, présence de structures lymphoïdes et de vaisseaux lymphatiques, et la capacité d'échantillonner les éléments présents dans la lumière. Son rôle d'échange semble limité et concentré vers l'humidification, le réchauffement et le nettoyage de l'air qui y circule.

- de l'autre, la paroi alvéolaire, dédiée aux échanges gazeux apparaît aussi fine que possible et limitée à une structure minimale : cytoplasme des cellules endothéliales, lames basales fusionnées, cytoplasme étalé en voile des pneumocytes de type I, film endo-alvéolaire. Le mucus a laissé la place au surfactant et le système immunitaire résident se résume ici aux macrophages intra alvéolaires. Ce qui n'exclut nullement l'intervention effectrice des autres acteurs de l'immunité si besoin. Autre différence, les immunoglobulines présentes sont des IgG plutôt que des IgA [21, 22]. L'examen du microbiote pulmonaire peut-il faire totalement l'impasse sur cette dualité qui justifierait probablement une

Figure 3 – Le poumon apparaît comme un organe bipartite avec deux grandes variétés d'interfaces, l'une bronchique, orientée vers la transmission et l'épuration de l'air, et l'autre alvéolaire, adaptée à la diffusion passive des gaz.



évaluation spécifique des alvéoles ? La logique fonctionnelle de l'organe qui est d'assurer des échanges gazeux au travers d'une paroi aussi mince que possible, la présence à demeure des macrophages, cellules dont l'aptitude phagocytaire n'est pas à démontrer, plaident pour une stratégie de maintien de la stérilité des alvéoles.

3.2. Comment peut se constituer le microbiote du poumon ?

Deux études au moins paraissent particulièrement informatives sur la façon dont ce microbiote bronchique pourrait se constituer. La première, déjà citée [19], compare les résultats des brossages bronchoscopiques du lobe supérieur gauche à ceux d'écouvillons prélevant d'une part le nez et d'autre part l'oropharynx. Les résultats obtenus font apparaître une similitude de la composition microbienne entre bronches et oropharynx, et une divergence commune avec celle du nez ; ceci suggère une constitution du microbiote bronchique par micro-aspirations à partir de l'oropharynx. La seconde étude [23], compare les séquences d'ARNr 16S dans des prélèvements obtenus de la bouche par gargarisme et du lobe moyen droit et/ou de la lingula par recueil de lavage broncho-alvéolaire chez 45 sujets non-fumeurs et 19 fumeurs. Comme Hilty et al, ils observent une similitude globale, mais aussi une surreprésentation de quelques espèces, notamment *Tropheryma whippelii*, des *Haemophilus* et des *Enterobacteriaceae*. Ceci suggère une influence des conditions locales. À noter que l'étude soigneuse de Warlson retrouve également *Tropheryma whippelii* dans trois échantillons de l'un des six sujets apparemment sains étudiés [14]. Globalement l'idée consensuelle qui se dégage est ainsi

celle d'une constitution du microbiote bronchique à partir de micro-aspirations issues de l'oropharynx et avec une diminution de son abondance au long de l'arbre bronchique. Charlson précise que l'estomac est l'objet d'un essaimage similaire avec cependant une abondance intermédiaire entre oropharynx et poumon [14]. La flore nasale, dont la composition se rapprocherait par ailleurs de celle de la peau, n'apparaît pas intervenir. L'influence du microbiome présent dans l'environnement aérien externe ne paraît pas avoir été évaluée en tant que telle, et semble devoir être également très marginale. Ceci pourrait sembler étonnant si l'on considère la fonction respiratoire de l'organe ; ce l'est peut-être moins si l'on se réfère à son origine évolutive dérivée du tube digestif et à la vocation de l'animal à se déplacer sur de longues distances, et donc dans des contextes aériens pouvant différer.

Reste la possibilité d'une modulation secondaire par effet de niche en fonction du terrain pulmonaire local. Erb-Downward et collaborateurs observent une diversité notable entre les communautés bactériennes d'échantillons provenant de différents sites d'un même poumon explanté d'un patient : ils observent que cette différence est en particulier frappante au niveau du lobe supérieur gauche, ce qu'ils rapprochent du constat clinique que, chez ces patients, l'emphysème débute le plus souvent dans cette région [24]. Il convient de remarquer là que le mode d'échantillonnage est différent de celui des études précédentes, et surtout qu'il s'agit d'un organe provenant d'un patient atteint d'une BPCO sévère et non d'un sujet apparemment sain.

Le second versant de l'interrogation sur la constitution de ce microbiote bronchique concernerait le moment de son apparition. La vision commune que le fœtus était par essence stérile était en harmonie avec une conception

purement pathogénique des micro-organismes, dans laquelle leur présence chez le fœtus aurait été *ipso facto* synonyme d'infection. Cette vision est naturellement remise en cause aujourd'hui : en quoi l'absence totale de microbiotes pourrait-elle être un quelconque avantage à la naissance ? Notamment d'un point de vue anti-infectieux. En réalité, aucun microbiote ne sera a priori mieux adapté à ce qui sera initialement l'entourage immédiat de l'enfant que celui de la mère. Il faut donc considérer qu'un des objectifs de la grossesse est d'assurer la transmission verticale mère-enfant de micro-organismes particuliers sélectionnés. Cet enjeu est a priori universel avec des stratégies diverses selon les espèces. [25]. Existe-t-il un microbiote pulmonaire prénatal ? Il ne semble pas y avoir de données sur le sujet, et la question est probablement anecdotique si l'on considère que sa composition dérive de microaspirations oropharyngées. Au pire, il est facile d'imaginer que l'ouverture des alvéoles pourrait suffire à générer une aspiration suffisante pour tapisser les conduits bronchiques. Ainsi le premier cri du nouveau-né pourrait-il être aussi celui de son microbiote découvrant un nouveau territoire.

3.3. Composition et modélisation du microbiote du poumon

La plupart des études cherchent à comparer l'état des microbiotes dans des situations pathologiques et/ou un tabagisme avéré avec celui de sujets témoins, réputés sains ; avec des résultats qui peuvent différer et ne donnent essentiellement de données que sur la composante

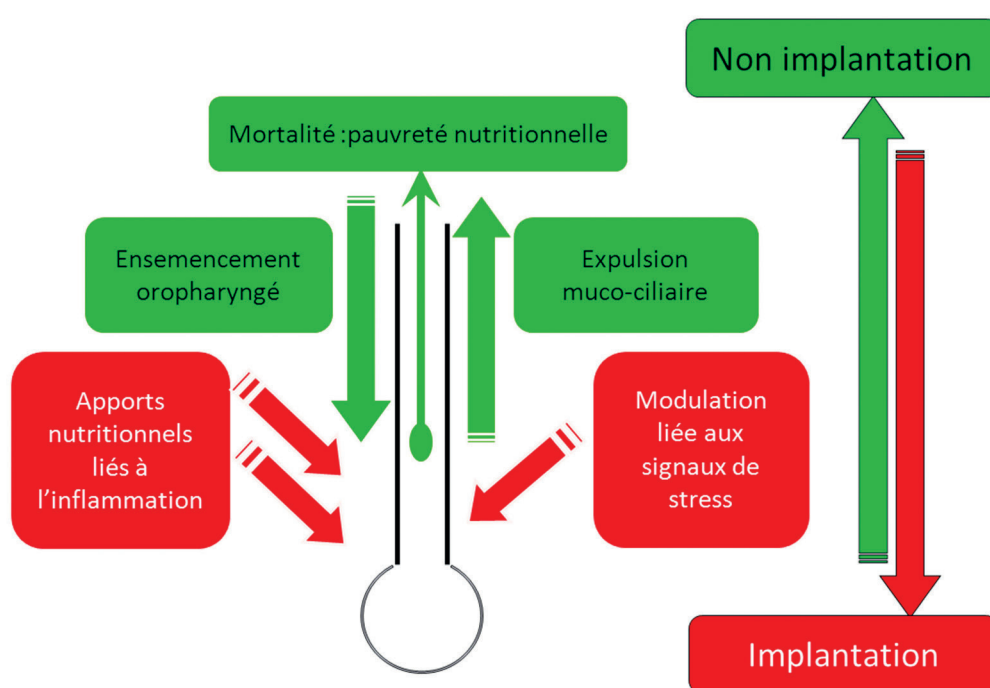
procariotique du microbiote. Les résultats de celle menée par Sze [20] sur des échantillons prélevés stérilement au niveau du hile de 32 poumons peuvent être récapitulés schématiquement comme suit :

- un niveau de diversité globale et d'abondance comparables entre les sujets atteints de BPCO (8 individus), fumeurs (8 individus) et non-fumeurs (8 individus), mais une diversité effondrée et une abondance très augmentée chez les 8 sujets atteints d'une mucoviscidose sévère.
- une composition bactérienne différente entre BPCO d'une part, mucoviscidose d'autre part, et sujets fumeurs et non-fumeurs regroupés ici dans un troisième « cluster ».

Pour l'immunologiste qui s'interroge sur sa discipline, l'élément le plus marquant est sans doute l'extraordinaire degré de la perturbation des populations microbiennes observé dans la mucoviscidose. Elle démontre que la défaillance d'un simple canal ionique, responsable de défauts de fluidité et de clairance muco-ciliaire, conduit à un cercle vicieux d'obstruction, inflammation et infections. Puisque l'objectif est « l'immunitas », cela plaide pour une définition large du système immunitaire, non cantonnée à la description des moyens conventionnels attribués à l'immunité innée et adaptative, mais étendue à l'ensemble des moyens assurant le bon état fonctionnel de l'organisme.

Un effort de modélisation a été récemment publié [26] pour essayer d'expliquer ce qui est observé dans les diverses études réalisées (figure 4). Elle s'appuie sur le constat que de façon consensuelle, le microbiote chez le sujet

Figure 4 – Modélisation de la constitution du microbiote pulmonaire à l'état physiologique (en vert) où il est contenu par la pauvreté du milieu ambiant et l'épuration muco-ciliaire ; et de sa modulation par son environnement lors des états pathologiques (en rouge) où les apports nutritionnels vont lui permettre de se développer, et les signaux liés au stress favoriser l'émergence de certaines espèces.



sain reflète essentiellement celui de l'oropharynx et en apparaît une extension se constituant par microaspiration. Elle s'articule autour de trois propositions et distingue la situation chez le sujet sain de celle en cas de pathologie.

* Chez le sujet sain et sans atteinte pulmonaire, le microbiote présent ne traduit qu'un équilibre entre l'arrivée de germes par microaspiration à partir de l'oropharynx et leur disparition locale (mortalité, élimination par le système muco-ciliaire...). Les facteurs locaux sont alors négligeables ou inopérants. La richesse et la composition de la flore dépendent alors essentiellement de la distance du site par rapport à la sphère oropharyngée.

* En cas de pathologie, cet équilibre se trouve rompu et l'écologie microbienne est remodelée par l'irruption de divers facteurs selon deux axes :

- d'une part, l'homéostasie nutritionnelle à l'interface de l'hôte est modifiée. L'absence d'impact local à l'état basal peut s'expliquer en effet par l'extrême pauvreté nutritionnelle de cet environnement, qui s'oppose à la survie ou à la croissance des espèces. Par contre, il a été montré dans un modèle murin que de provoquer l'apparition d'un œdème inflammatoire, notamment alvéolaire, riche en protéines, en enrichissant le milieu, entraînait un accroissement de la masse bactérienne sans diminution de sa diversité globale. De plus le microbiote ainsi obtenu facilitait lui-même une atteinte alvéolaire ; d'où une aptitude à générer un cercle vicieux.

- d'autre part, les signaux de communication émis en cas de stress ne sont pas neutres sur l'écologie bactérienne. Les effets étant variables selon les espèces, ceci conduit à une contraction de la diversité avec émergence d'espèce pathogène dominante ; par exemple, les catécholamines améliorent ainsi la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

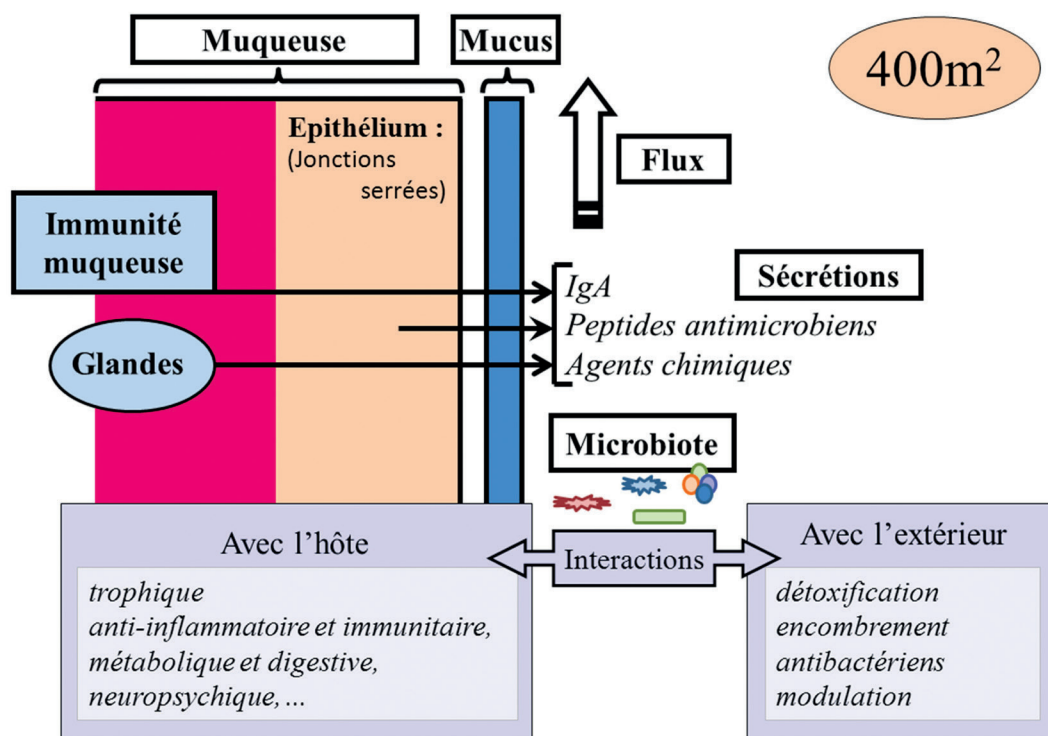
Cette modélisation a l'avantage de faire comprendre pourquoi l'installation d'une pneumonie peut être explosive, ou encore la fréquence des surinfections après les atteintes virales. Elle suggère aussi que contrairement à l'intestin, l'équilibre et la protection pourraient reposer sur la non implantation des germes.

4. Microbiotes, poumon et aménagement des frontières

4.1. Microbiotes et aménagement des frontières [21,22,27,28]

La compréhension et les conséquences que l'on pourra tirer de ces informations obligent à replacer chaque microbiote dans son contexte et le rôle qu'il peut y jouer. Celui-ci s'inscrit au niveau des barrières, zones d'échanges avec l'extérieur, qui séparent l'organisme hôte de son environnement, et au milieu de leurs moyens de défenses (figure 5). D'une façon générale, ces moyens peuvent

Figure 5 – Le microbiote s'insère au sein des mécanismes généraux de défense des barrières (moyens mécaniques d'étanchéité, flux d'élimination, sécrétions de produits chimiques ou biologiques dotés d'activités antimicrobiennes ou de réparation, sécrétions issues des cellules épithéliales, de glandes ou du système immunitaire muqueux), et interagit à la fois avec l'hôte et avec les intervenants extérieurs.



être déclinés selon plusieurs axes : des moyens mécaniques d'étanchéité (jonctions serrées intercellulaires, kératinisation de la peau, mucus des muqueuses), des flux d'élimination (desquamation, expectoration...), des sécrétions de produits chimiques (H^+ , $NaCl$...) ou biologiques dotés d'activités antimicrobiennes ou de réparation, sécrétions issues des cellules épithéliales, de glandes ou du système immunitaire muqueux (IgA...), et enfin le microbiote. Ce dernier est en interaction avec son hôte sur lequel il peut exercer toute une série d'influences (digestive et métabolique, trophique, immunitaire, voire neuropsychique...), et d'autre part avec l'environnement et ses agressions potentielles contre lesquelles il va également pouvoir jouer un rôle protecteur (détoxification de xénobiotiques, occupation des espaces d'implantation, synthèse de produits antimicrobiens...). Le double équilibre entre l'hôte et son microbiote, et au sein de ce microbiote, serait ainsi essentiel à la protection et à la bonne santé de l'hôte.

La vision que l'on a au niveau des muqueuses est très largement dominée par ce que l'on comprend au niveau digestif [27 et Kolopp-Sarda dans ce numéro]. Cependant le poumon représente une situation particulière parce qu'il s'agit d'une surface d'échanges gazeux développée pour interagir avec l'air ambiant, selon un mécanisme d'aller-retour et non de traversée. Et chez l'homme, il s'est différencié pour prendre en charge un fort débit (près de 12 000 L/jour) d'un air très pauvre en micro-organismes, avec de possibles contaminations particulières, possiblement temporairement denses comme avec les pollens par exemple. Il n'est ainsi - et Homo avec lui - pas naturellement adapté à la pollution citadine et à la concentration humaine urbaine, avec ses densités élevées de germes. L'asthme et les bronchopneumopathies en sont-ils une contrepartie ?

La défense du territoire repose ainsi prioritairement sur les mécanismes d'épuration physique : d'abord le piégeage progressif des particules au niveau des voies aériennes supérieures et du mucus de l'arbre bronchique, particulièrement au niveau des embranchements, et pour ce qu'il en reste par les macrophages alvéolaires ; puis l'expulsion continue grâce aux mouvements ciliaires des cellules épithéliales, ou accélérée et amplifiée par la toux et l'éternuement. Les macrophages alvéolaires sont destinés à être expulsés pour la plupart, et orientés vers leur activité phagocytaire et non oxydative, ce qui limite leur agressivité locale. On retrouve naturellement la sécrétion de toute une série de molécules protectrices (défense et régulation) [21, 22]. À côté de ces dispositifs, le poumon est d'autant plus intégré dans le réseau des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, que la déglutition oriente les éléments remontés par le système muco-ciliaire vers le territoire intestinal. Ceci renforce le rôle central que peut jouer ce dernier, alors que le poumon apparaît plus marginal. La présence d'un tissu lymphoïde associé aux bronches (le « BALT » des anglophones) est ainsi très variable selon les espèces et les individus. Contrairement au rat ou au lapin par exemple, où il est constitutif, il semble que l'on puisse retenir qu'il n'est pas normalement présent chez l'homme, mais inductible comme une adaptation aux circonstances telles qu'une irritation ou infection, notamment chroniques ; en particulier chez l'enfant et aux embranchements bronchiques.

Chez l'homme normal, ce manque de BALT serait au moins en partie compensé par le réseau des cellules dendritiques qui se développe à partir de la naissance en réponse à l'exposition aux antigènes [28, 29].

Dans ce contexte, le mode de constitution du microbiote pulmonaire axé vers le renouvellement avec peu ou pas de prolifération, et possiblement une part de mortalité, est sans doute révélateur d'un fonctionnement différent, a priori essentiellement protecteur et détoxifiant, articulé autour de la non-implantation. Qu'on peut imaginer aussi en cohérence avec l'apparition tardive de l'organe comme une expansion du tube digestif, et avec le développement de l'anneau de Waldeyer dont il souligne l'importance fonctionnelle.

4.2. Une vision renversante de l'immunologie

La survie d'un organisme repose sur deux fonctions essentielles : se nourrir et se défendre ; avec globalement dans les deux cas une participation active des microbiotes. Pour assurer le maintien du bon état fonctionnel de l'organisme, le Système Immunitaire doit éliminer toute menace et donc la reconnaître, qu'elle soit endogène (dérèglements des cellules ou masse des déchets liée à leur mort...) ou exogène (agents infectieux ou toxiques...). Il le fait en s'appuyant sur des motifs généraux identifiés au cours de l'évolution comme « non-soi » (ce qui ne signifie plus nécessairement dangereux), par exemple une redondance de mannose. Et il peut gérer ces motifs grâce à des récepteurs préformés, par exemple la « mannose binding protein », dont il est rentable de disposer en quantité suffisante pour être immédiatement efficace, puisqu'on sait qu'ils seront couramment utiles. C'est le support de ce qu'on appelle l'immunité innée. Et s'il n'y avait pas de variabilité et interférences du monde extérieur, elle suffirait entièrement, puisque tout serait prévisible.

L'intrusion de cette variabilité, d'origine exogène, et donc non prévisible, impose de disposer de mécanismes permettant de la prendre en charge. Ceci suppose la capacité de mettre en œuvre à la demande de nouveaux moyens qui correspondent à ce que l'on appelle l'immunité adaptative ; et la rentabilité impose qu'il s'agisse de potentialités mécanistiques qui ne prendront toute leur place qu'en fonction du besoin. Ainsi le Système Immunitaire pourra-t-il s'adapter à l'environnement de l'organisme et recruter par ce biais les moyens de l'immunité innée contre de nombreux intervenants. On comprend alors que cette immunité adaptative, en dépit de son extrême complexité, ne joue en réalité qu'un rôle complémentaire. Et aussi que l'essentiel va se jouer aux interfaces avec l'extérieur. C'est en effet là que l'organisme est confronté à des menaces permanentes et imprévisibles. Et ce n'est qu'en cas de brèche, accidentelle ou provoquée par l'implantation d'un pathogène, que les acteurs dédiés de l'immunité innée puis adaptative auront à jouer tout leur rôle.

Si, en miroir, on regarde dans les ouvrages destinés aux étudiants [30, 31], le poids relatif représenté par ces trois articulations de nos stratégies défensives, on s'aperçoit qu'en gros 65 % des pages sont consacrées à l'immunité adaptative, 30 % à l'immunité innée et 5 % à la défense des frontières.

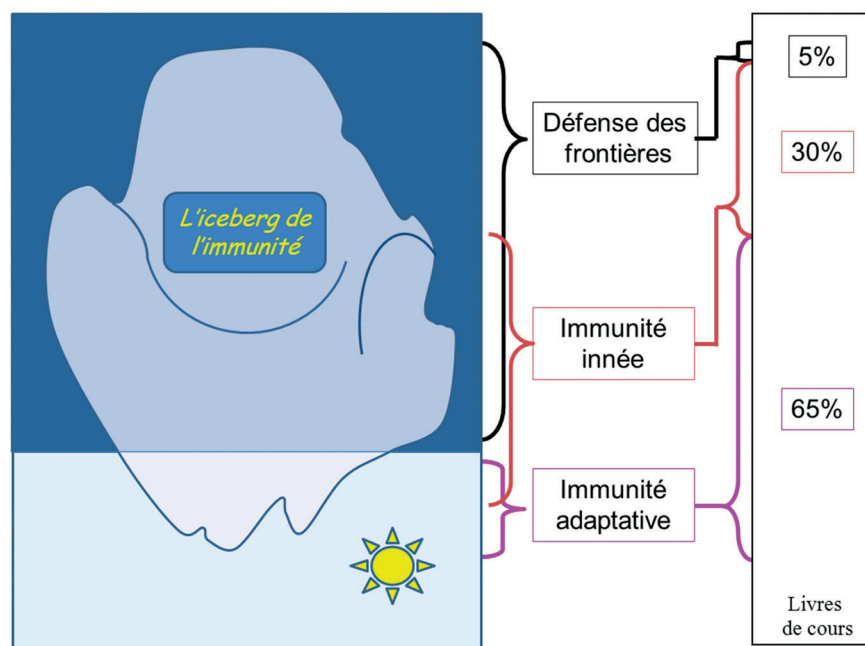


Figure 6 – Une vision renversante de l'Immunologie: par la permanence de ses interventions dans la protection de l'organisme et leur caractère peu apparent, la défense des frontières ressemble à la masse cachée de l'iceberg, contrairement à l'immunité adaptative qui attire le regard. Face à cela, la part réservée dans les ouvrages d'enseignement de l'Immunologie aux trois composantes de nos moyens de défense semble disproportionnée, et pourrait principalement refléter l'impact de leur visibilité dans l'histoire de la discipline.

Cette présentation largement inversée de notre Système Immunitaire (figure 6) résulte naturellement d'une complexité supposée plus grande de l'adaptatif, mais aussi bien plus probablement de l'histoire de la discipline. La prééminence de l'immunité adaptative reflète-t-elle autre chose que le fait qu'elle était simplement plus facile à repérer au départ ? Comme la partie émergée de l'iceberg... En remettant en lumière nos interfaces, les microbiotes qui y résident, viennent nous inviter à reconsidérer et peut-être réorienter l'enseignement de la discipline ; et achever de gommer ainsi les biais intellectuels qu'il a pu induire.

4.3. Une nouvelle phase de l'histoire de l'immunologie et un nouveau regard sur l'homme

L'actuelle mise en lumière des microbiotes nous renvoie à la fin du XIX^e siècle où Pasteur s'interrogeait déjà sur un éventuel effet bénéfique de l'environnement microbien. Cependant l'urgence était alors à la lutte contre les grandes maladies infectieuses, et l'immunologie s'est constituée autour d'une approche raisonnée pour promouvoir la protection de l'individu au travers de la vaccination et de la sérothérapie [18]. Cette première phase de l'histoire de l'Immunologie est ainsi tendue vers l'acquisition d'une immunité, que plus tard on requalifiera d'adaptative, que l'on démontrera être spécifique du pathogène considéré, et que l'on cherchera à décrire, comprendre et évaluer. Et il se trouve que les moyens techniques de l'époque étaient essentiellement adaptés à l'étude du versant humoral de la réponse, et par suite à la description des anticorps. Cette première période débouche sur la théorie, philosophique, du « soi » et du « non-soi » proposée par Frank Macfarlane Burnet, dont il convient cependant de garder en mémoire, qu'elle est historiquement née dans la perspective de la tolérance.

Après la seconde guerre mondiale, les progrès méthodologiques mettent en lumière le côté cellulaire, avec notamment l'entrée en scène et le démembrement des lymphocytes, et la description des phénomènes de coopération entre cellules. L'importance de l'immunité innée, ou naturelle, va alors émerger et Charles Janeway va en faire la gardienne des clefs de la réponse immunitaire. Cette phase conduit à la théorie du danger de Polly Matzinger. Pour celui qui ne veut pas s'immiscer dans des querelles de chapelles, on peut en retenir que c'est la perception du danger par l'organisme, notamment via l'immunité naturelle, qui déclenche la réaction immunitaire ; le « non-soi » devenant en quelque sorte, ce qui s'accompagne de cette perception de danger. Il n'est écrit nulle part dans la séquence d'un épitope s'il vient du « soi » ou du « non-soi », et c'est seulement le contexte de sa reconnaissance qui détermine les conséquences de celle-ci.

Avec le XXI^e siècle commence probablement une nouvelle période de l'histoire de la discipline avec l'apparition au premier plan des préoccupations de régulation et la résurgence des microbiotes. L'aménagement des interfaces de l'organisme et leur gestion ou prise en compte par le système immunitaire deviennent des interrogations centrales. Et de façon intéressante un nouveau regard philosophique nous est parallèlement proposé avec la théorie de la discontinuité avancée par Thomas Pradeu [32], dans laquelle la réponse est déclenchée par une discontinuité forte dans les interactions entre récepteurs et motifs antigéniques. En assimilation avec les théories précédentes, on pourrait dire que ce qui n'est pas là « comme depuis toujours », est reconnu comme « non-soi » et potentiellement « dangereux ». Ce sont trois façons d'aborder la même problématique, avec des approches différentes et en partie complémentaires, mais qui traquent aussi l'évolution de la discipline.

Cette mise en lumière de l'aménagement des interfaces de l'organisme et des microbiotes qui y résident et y jouent un rôle protecteur, va même plus loin que de nous convier à regarder différemment l'Immunologie (figure 7). Elle nous interroge sur la place qu'il nous faut accorder

à nos microbiotes vis-à-vis de notre propre entité, ce qui nous renvoie à cette question : qu'est-ce que l'homme ? La réponse peut être recherchée dans les gènes, et leur origine évolutive ; elle impose alors la modestie (figure 8) : l'apport primate ne serait que de 6 %, vertébré de 13 %,

Figure 7 – Une nouvelle phase de l'histoire de l'immunologie ? En même temps que l'exploration des microbiotes prend un nouvel essor, notre époque voit apparaître au premier plan des préoccupations de régulation et de gestion des interfaces de l'organisme ; tandis qu'un nouveau regard philosophique nous est proposé avec la théorie de la discontinuité.

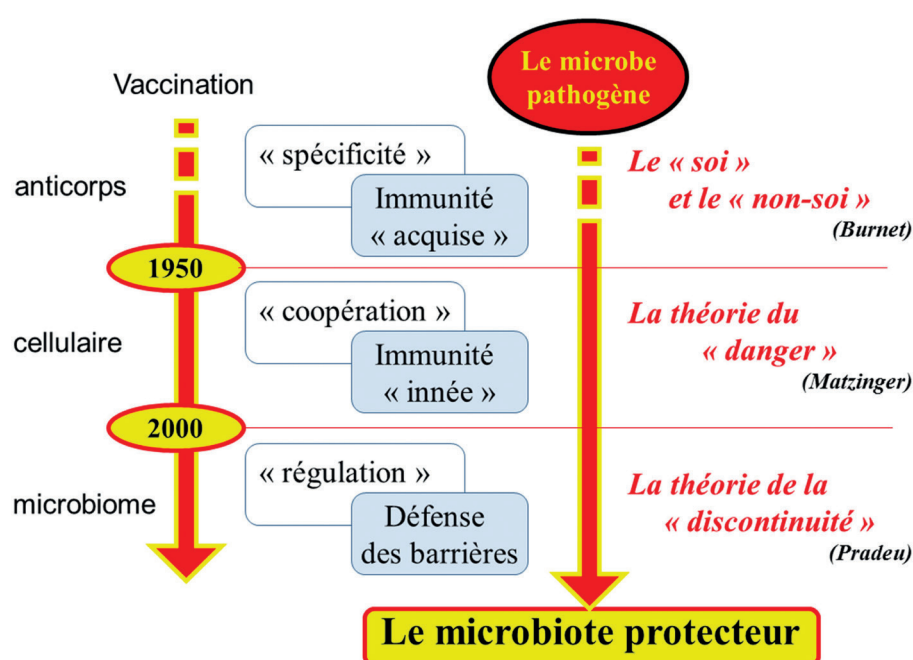
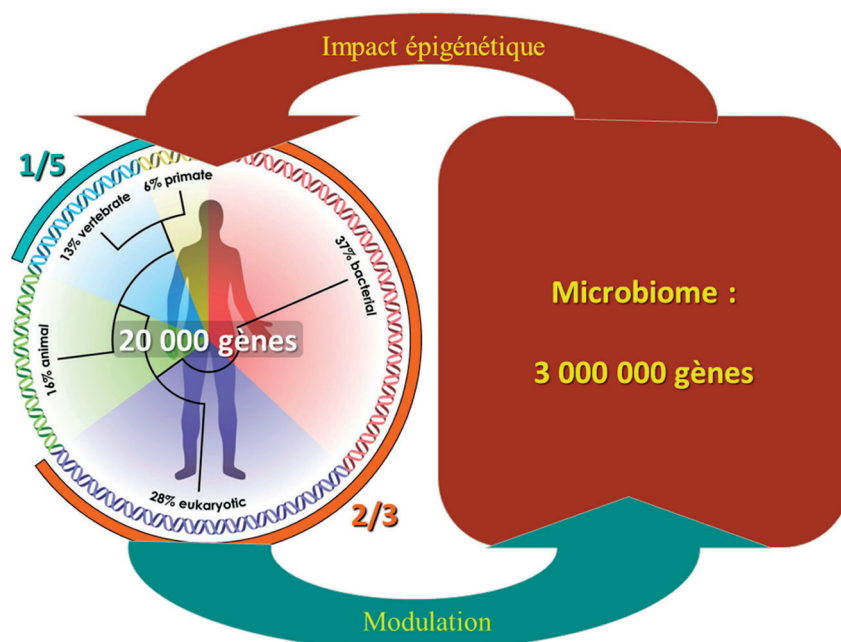


Figure 8 – Une histoire de gènes pour un nouveau regard sur l'homme (image de l'homme modifiée d'après McFall-Ngai M et al. [33]).



animal de 16 %, eucaryote de 28 % et bactérien de 37 % [33]. Et à côté de cela, on estime que nos microbiotes représentent de l'ordre de dix fois plus de cellules et cent cinquante fois plus de gènes que nous-mêmes. Et ces deux ensembles interagissent et s'influencent au point que la théorie de l'hologénome propose que ce soit la communauté des deux, l'hobolobionte, qui soit l'objet réel de l'évolution [34].

5. Conclusion

Au niveau pulmonaire, le microbiote semble être chez le sujet sain une expansion essentiellement bronchique de celui de l'oropharynx, cantonnée par l'épuration muco-

ciliaire et la pauvreté des ressources disponibles localement. En regard, le tissu lymphoïde associé aux bronches apparaît plus inductible que constitutif chez l'homme. Cette interface semble ainsi particulière par son orientation vers la non implantation des germes et leur éviction des surfaces d'échanges gazeux ; ce qui la rend aussi mal adaptée à la concentration des individus et la pollution de nos sociétés. Tout ceci incite l'immunologiste à repenser le système immunitaire en redonnant toute sa place à l'aménagement des interfaces de notre organisme.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet* 2013;29(1):51-8.
- [2] Lehman HK. Autoimmunity and Immune Dysregulation in Primary Immune Deficiency Disorders. *Curr Allergy Asthma Rep* 2015;15:53.
- [3] Mahajan A, Herrmann M, Muñoz LE. Clearance Deficiency and Cell Death Pathways: A Model for the Pathogenesis of SLE *Front Immunol* 2016;7:35.
- [4] Pradeu Th. Les incertitudes du soi et la question du bon modèle théorique en immunologie. *Med Sci (Paris)* 2005;21:872-5.
- [5] Beck JM. ABCs of the lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11(Suppl 1):S3-6.
- [6] Walters WA, Knight R. Technology and techniques for microbial ecology via DNA sequencing. *Ann Am Thorac Soc* 2014;11(Suppl 1):S16-20.
- [7] Gest H. The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni Van Leeuwenhoek, fellows of the Royal Society. *Notes Rec R Soc Lond* 2004;58(2):187-201.
- [8] Nair P. Woese and Fox: Life, rearranged. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(4):1019-21.
- [9] Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74(11):5088-90.
- [10] Owyang C, Wu GD. The gut microbiome in health and disease. *Gastroenterology* 2014;146(6):1433-6.
- [11] Berger G, Wunderink RG. Lung microbiota: genuine or artifact? *Isr Med Assoc J* 2013;15(12):731-3.
- [12] Huang YJ, Charlson ES, Collman RG, et al. The role of the lung microbiome in health and disease. A National Heart, Lung, and Blood Institute workshop report. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(12):1382-7.
- [13] Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW et al. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 2012;70 (Suppl 1):S38-44.
- [14] Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(8):957-63.
- [15] Licandro-Seraut H, Scornec H, Pédrón T et al. Functional genomics of *Lactobacillus casei* establishment in the gut. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(30):E3101-E3109.
- [16] Schnupf P, Gaboriau-Routhiau V, Gros M et al. Growth and host interaction of mouse segmented filamentous bacteria in vitro. *Nature* 2015;520(7545):99-103.
- [17] Nigro G, Rossi R, Commere PH et al. The cytosolic bacterial peptidoglycan sensor Nod2 affords stem cell protection and links microbes to gut epithelial regeneration. *Cell Host Microbe* 2014;15(6):792-8.
- [18] Ducluzeau R, Raibaud P. Ecologie microbienne du tube digestif. Paris. Masson. 1979. 96 pp.
- [19] Hilty M, Burke C, Pedro H et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS ONE* 2010;5(1):e8578.
- [20] Sze MA1, Dimitriu PA, Hayashi S et al. The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185(10):1073-80.
- [21] DeLong PA, Kotloff RM. An overview of pulmonary host defense. *Semin Roentgenol* 2000;35(2):118-23.
- [22] Nicod LP. Pulmonary defence mechanisms. *Respiration* 1999;66(1):2-11.
- [23] Morris A, Beck JM, Schloss PD et al. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(10):1067-75.
- [24] Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK et al. Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. *PLoS ONE* 2011;6(2):e16384.
- [25] Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol* 2013;11(8):e1001631.
- [26] Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. Homeostasis and its disruption in the lung microbiome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2015;309(10):L1047-55.
- [27] Bourlioux P. Actualité du microbiote intestinal (Current view on gut microbiota). *Ann Pharm Fr* 2014;72(1):15-21.
- [28] Renz H, Brandtzaeg P, Hornef M. The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2011;12(1):9-23.
- [29] Tschernig T, Pabst R. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases. *Pathobiology*. 2000;68(1):1-8.
- [30] Espinosa E, Chillet P. Immunologie parcours LMD. Paris. Ellipses édition. 2010;511 pp.
- [31] Collège des enseignants d'Immunologie (ASSIM). Immunologie fondamentale et immunopathologie (cours de L2-L3 Médecine). Issy-les-Moulineaux. Elsevier Masson. 2013;260 pp.
- [32] Pradeu T, Jaeger S, Vivier E. The speed of change: towards a discontinuity theory of immunity? *Nat Rev Immunol* 2013;13(10):764-9.
- [33] McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(9):3229-36.
- [34] Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32(5):723-35.

Système immunitaire muqueux et microbiote intestinal : histoire d'une symbiose

Marie-Nathalie Kolopp-Sarda^{a,b}

RÉSUMÉ

Le fœtus humain se développe dans un environnement sans bactéries, il commence à acquérir sa flore commensale muqueuse et cutanée lors de l'accouchement. Chez le nouveau-né, cette flore variera en nombre et en diversité phylogénique en fonction de l'âge, de l'environnement, de la nutrition, pour atteindre 10^{14} germes rien que dans l'appareil digestif. Cette flore commensale ou microbiote est essentiellement composée de bactéries, en particulier de 4 phyla, mais également de levures, de champignons et de virus bactériophages, encore peu connus. L'homme abrite donc des microorganismes qu'il tolère, avec lequel il a des interactions, dès la naissance et tout au long de la vie, qui sont essentielles pour l'adaptation à l'environnement et le maintien de l'homéostasie intestinale. Dès la naissance, le microbiote est impliqué dans la mise en place du système immunitaire associé aux muqueuses (MALT). Puis tout au long de la vie, le MALT sera stimulé par le microbiote afin de maintenir une tolérance vis-à-vis de cette flore (lymphocytes Th3, TGF- β , IgA sécrétoires) et une protection contre les germes pathogènes. Dans le cas d'invasion par des germes pathogènes, des réponses effectrices doivent se développer faisant intervenir en particulier les lymphocytes Th17 muqueux et les ILC (innate lymphoid cells), devenant effecteurs dans certains contextes cytokiniques : ces réactions sont transitoires et l'homéostasie est rétablie très rapidement. Une rupture de tolérance muqueuse peut entraîner des réactions inflammatoires chroniques pathologiques.

GALT- IgA sécrétoires - immunité innée - microbiote - système immunitaire associé aux muqueuses - TGF- β - tolérance.

1. Introduction : commensalisme, mutualisme et symbiose

Le système immunitaire a longtemps été défini comme un système de défense contre tous les éléments du non Soi qui auraient des velléités à s'introduire dans l'organisme. La notion de tolérance du Soi, de ses propres cellules et constituants, a été ensuite développée dans le cadre pathologique de maladies auto-immunes. Entre défense et tolérance, un équilibre est créé, sur lequel repose la physiologie du système immunitaire : c'est l'homéostasie.

a Laboratoire d'Immunologie

Centre Hospitalier Lyon Sud
165 chemin du Grand Revoyet
69495 Pierre Bénite

b EA 4130, Immunogénomique et Inflammation

Université Claude Bernard Lyon 1

* Correspondance

marie-nathalie.sarda@chu-lyon.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Mucosal Associated Lymphoid Tissue and intestinal microbiota: history of a symbiosis

Human foetus develops in a sterile environment. Mucosal and cutaneous colonisation begins at birth, with acquisition of his mother's vaginal, fecal and cutaneous flora. Age, nutrition, environment introduce quantitative and phylogenetic variations in newborn's flora which reaches 10^{14} germs in the digestive system. In adults, the commensal flora or microbiota consists essentially of bacteria, in particular of 4 phyla, but also of yeasts and bacteriophage viruses. Physiologically, human develops tolerance against microbiota (Th3 lymphocytes, TGF- β , secretory IgA) and many interactions are essential for adaptation to our environment and preservation of intestinal homeostasis. Microbiota is involved in mucosal immune system (MALT) ontogeny in newborns. Then, throughout the life, MALT will be stimulated by microbiota to maintain tolerance, but also to develop protective immune responses against pathogens, with activation of Th17 lymphocytes and ILC (innate lymphoid cells). These inflammatory reactions are transient, and homeostasis is quickly restored. Otherwise, there is a breakdown of tolerance and development of pathological chronic inflammatory reactions.

GALT – secretory IgA – innate immunity - microbiota - adaptative immunity - Mucosal Associated Lymphoid Tissue - TGF- β – tolerance.

Claude Bernard a introduit ce concept en 1865 : « *Tous les mécanismes vitaux, quelque variés qu'ils soient, n'ont toujours qu'un but, celui de maintenir l'unité des conditions de la vie dans le milieu intérieur.* » Et c'est Walter Bradford Cannon, physiologiste américain, qui a créé le terme homéostasie, de l'étymologie grecque : *homoios* (« égal, semblable à ») et *stasis* (« état, position ») (*The Wisdom of the Body* (1932) – *La sagesse du corps*).

Au niveau des muqueuses, le MALT (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue*, système immunitaire associé aux muqueuses) fonctionne selon cette notion d'équilibre homéostatique. Et pour cela, l'alliance des mammifères et de leur flore joue un rôle essentiel ; par exemple le microbiote intervient dans les fonctions physiologiques de l'intestin, dans la maturation du GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue*, système immunitaire associé à l'intestin) et le maintien d'un état de tolérance active. La notion que la flore microbienne favorise la santé de l'homme n'est pas un concept récent. Il a déjà été proposé par Albert Doderlein

Liste des abréviations

CFU	Colony Forming Unit
DAMPs	Danger Associated Molecular Patterns
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
IFN-γ	interféron- γ
IL-	interleukine-
ILC	innate lymphoid cells
KGF	Keratinocyte Growth factor
MALT	Mucosal Associated Lymphoid Tissue
NF-kB	Nuclear Factor-kappa B
PRRs	Pattern Recognition Receptors
NLR ou NOD-like receptor	Nucleotid Oligodimerization Domain-Like Receptor
PAMPs	Pathogen Associated Molecular Patterns
PSA	polysaccharide A
RegIII	Regenerating islet-derived protein 3
SCFA	Short Chain Fatty Acid
SFB	Segmented Filamentous Bacteria
TGF-β	Transforming Growth Factor - β
TLR	Toll-Like Receptors.

en 1892 et sa compréhension du rôle des lactobacilles comme gardiens de l'écosystème vaginal.

La diversité des communautés microbiennes qui nous habitent est aussi vaste que celle qui existe sur terre. Ainsi coexistent dans notre organisme, archées, bactéries, champignons, protozoaires et virus [1, 2]. Dominantes par leur nombre, les bactéries ont été à ce jour les plus étudiées, en particulier au niveau intestinal où leur densité est la plus importante [3]. La flore est définie comme commensale, de «*cum*» avec et «*mensa*» table, nourriture, car elle partage avec son hôte la nourriture essentielle à son développement. Pour la majorité des germes du microbiote, cette alliance avec l'hôte est symbiotique, car il existe une co-évolution des espèces associées depuis des millions d'années. Cette symbiose est positive car l'alliance est à bénéfice mutuel, on parle alors de mutualisme.

Dans cet article, les relations entre système immunitaire associé aux muqueuses et microbiote seront développées, essentiellement dans l'intestin, afin de montrer les mécanismes favorisant l'équilibre physiologique au sein des muqueuses, depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. La pathologie ne sera abordée qu'en dernier lieu, avec l'exemple des maladies inflammatoires intestinales.

2. Colonisation de l'intestin par le microbiote : la flore intestinale chez le nouveau-né et l'adulte

La composition de la flore intestinale était mal connue, mises à part certaines bactéries contenues en grande quantité dans les selles et facilement cultivables soit

seulement 20 à 30 % des bactéries du tractus digestif. Cependant le rôle de la flore dans les pathologies inflammatoires intestinales est décrit depuis de nombreuses années [4]. Notre connaissance actuelle de la biodiversité du microbiote intestinal humain repose en grande partie sur l'évolution des techniques de biologie moléculaire réalisée depuis les années 2000 [5]. Ces techniques sont basées sur la comparaison des séquences des gènes de l'ARN de la petite sous-unité du ribosome (ARNr 16S), gènes hautement conservés chez les procaryotes, elles permettent l'étude qualitative et/ou quantitative de la diversité microbienne.

2.1. Mise en place et évolution du microbiote intestinal chez le nouveau-né

L'établissement de la première flore commence à la naissance : le nouveau-né acquiert cette flore à partir de la flore vaginale, fécale et cutanée de sa mère lors de l'accouchement [6]. La colonisation des tissus du nouveau-né par la flore est facilitée par l'immaturité de son système immunitaire et un environnement tolérogène au sein des muqueuses, mais également par différents composés du lait maternel tels que les IgA sécrétoires, les cytokines, les microorganismes et cellules contenus dans cette sécrétion [7, 8]. Cette flore évolue, quantitativement et qualitativement (variations phylogéniques) avec l'âge et en fonction de l'environnement et de l'alimentation. Le nouveau-né acquiert sa flore adulte entre 2 et 4 ans [9]. La taxonomie des principales bactéries de la flore est rapportée dans le **tableau I**.

Dans les 48 premières heures, le tractus gastro-intestinal est colonisé par des bactéries aérobies/anaérobies facultatives (environ 10^4 - 10^6 CFU/g (Unité Formant Colonie/g de contenu luminal) : streptocoques, entérocoques, staphylocoques (bacilles Gram +, *phylum Firmicutes*). Cette colonisation est indépendante de l'alimentation. En consommant l'oxygène, ces bactéries permettent la colonisation par des bactéries anaérobies strictes (10^9 CFU/g au dixième jour) : essentiellement des *Bifidobacterium* (bacilles Gram + *phylum Actinobacteria*) et moins de *Lactobacillus* (bacilles Gram + *phylum Firmicutes*), provenant de la muqueuse vaginale et du lait maternel [7, 10]. Grâce à leur métabolisme anaérobie strict qui entraîne la formation d'acides lactique et acétique, ces bactéries maintiennent un pH luminal acide, favorisant leur propre développement aux dépens des germes anaérobies facultatifs potentiellement pathogènes.

Chez le nourrisson nourri au lait maternel, au moment du sevrage, de nouvelles bactéries colonisent l'iléon, les Bactéries Filamenteuses Segmentées (SFB *Segmented Filamentous Bacteria*, bacilles Gram + *phylum Firmicutes*). Ce délai d'apparition est lié à la présence dans le lait d'IgA spécifiques de ces bactéries empêchant leur développement. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la maturation du système immunitaire associé aux muqueuses (cf § 4.1). Décrites la première fois en 1965 dans l'intestin de souris (revue dans [11], ces bactéries sont encore aujourd'hui non cultivables *in vitro*. Ce sont des bactéries Gram+ classées comme un nouveau genre de l'ordre des Clostridiales après analyse comparative des séquences des gènes de l'ARNr 16S. Elles sont

Tableau I – Tableau récapitulatif des différentes familles de bactéries retrouvées dans le microbiote intestinal chez l'homme, et leur classification. BG+ : *bacille Gram positif*; BG- : *bacille Gram négatif*; O2 : *di-oxygène*.

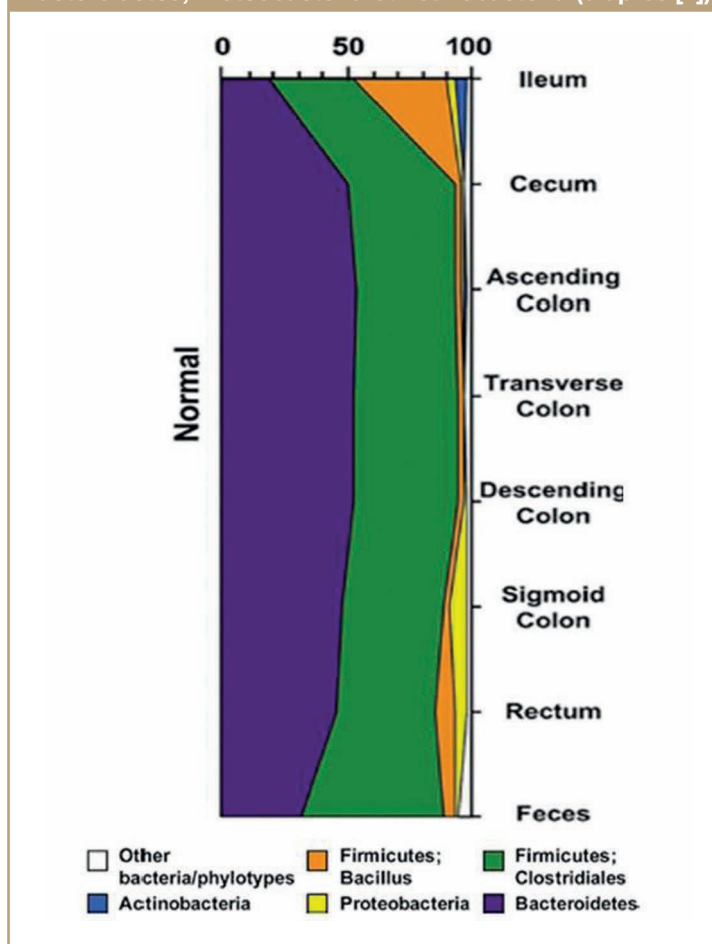
Embranchement ou Phylum	Classe	Famille	Genre	Gram	Caractéristiques	
Firmicutes	Bacilli	Streptococcaceae	Streptococcus	BG+	Aérobic/anaérobic facultatif	10 % de la flore intestinale aérobic
	Bacilli	Streptococcaceae	Enterococcus	BG+	Aérobic/anaérobic facultatif	
	Bacilli	Staphylococcaceae	Staphylococcus	BG+	Aérobic/anaérobic facultatif	Peu dans intestin, plutôt peau, cuir chevelu, nez, gorge
	Bacilli	Lactobacillaceae	Lactobacillus	BG+	Anaérobic, supporte mal l'O ₂	
Firmicutes	Clostridia	Clostridiaceae	Clostridium	BG+	Anaérobic strict	
	Clostridia	Clostridiaceae	Segmented Filamentous Bacteria	BG+	Anaérobic strict	Partie terminale de l'iléon au moment du sevrage
	Clostridia	Clostridiaceae	Faecalibacterium	BG+	Anaérobic strict	Seule espèce : <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	BG+	Anaérobic strict	
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidaceae	Bacteroides	BG-	Anaérobic strict	
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Enterobacteriaceae	Escherichia	BG-	Aérobic	<i>E. coli</i> 80 % de la flore intestinale aérobic

retrouvées dans l'intestin de très nombreuses espèces telles que la souris, le rat, les singes, les poissons (carpe, truite arc-en-ciel), le cochon d'inde, le cheval, le veau... mais également les myriapodes, le termite, le cafard, le scarabée... [11]. Chez l'homme, les SFB disparaissent ensuite de l'iléon des sujets adultes.

Ensuite, le passage à une alimentation solide vers l'âge de 6 mois est un facteur majeur de diversification du microbiote intestinal : augmentation du nombre des entérobactéries, en particulier *Escherichia coli* (phylum *Proteobacteria*, 80 % de la flore aérobic intestinale), et des bactéries du genre *Bacteroides* (phylum *Bacteroidetes*) telle que *Bacteroides fragilis*, et en moindre quantité des *Clostridium* (*Firmicutes*). À la fin de la première année, la composition de la flore intestinale est marquée par la très grande augmentation de la flore anaérobic stricte dans la partie distale du colon : *Bacteroidetes* et *Firmicutes* de l'ordre des *Clostridiales*, en particulier *Faecalibacterium prausnitzii* qui a des capacités immunomodulatrices [12]. Vers l'âge de 2 ans, un équilibre des populations bactériennes équivalentes à celle de l'adulte est atteint, ce microbiote est alors relativement stable dans les conditions normales chez un même individu, mais de grandes variations ont été décrites entre individus. Ces variations sont liées à des facteurs génétiques, dont certains seraient impliqués dans les pathologies inflammatoires de l'intestin, à l'alimentation et à l'environnement des individus [3]. Chez les sujets âgés, il est rapporté des variations de composition du microbiote : une diminution des *Bifidobacterium* en faveur des entérobactéries, ainsi qu'une diminution des *Bacteroidetes* par rapport aux *Firmicutes*. Ces variations ont un impact sur la santé de ces sujets car ces bactéries sont impliquées dans la stimulation du système immunitaire et également dans les processus métaboliques [13].

Figure 1 – Composition du microbiote dans des conditions physiologiques tout au long de l'intestin :

4 phyla représentés *Firmicutes* (*Bacillus* et *Clostridiales*), *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* (d'après [4])



2.2. La flore chez l'adulte

Chez l'adulte, la densité en bactéries dépend du segment de l'intestin, elle augmente en fonction de la déperdition en oxygène le long du tractus gastro-intestinal [4]. Cette diminution de la teneur en oxygène est provoquée par l'important péristaltisme associé à l'intestin grêle. On remarque ainsi que l'estomac abrite très peu de bactéries, de par son activité digestive produisant un milieu très acide et donc hostile aux bactéries : de l'estomac au duodénum (10^2 - 10^3 germes aérobies/g de contenu luminal), puis 10^3 dans l'iléon proximal à 10^7 - 10^8 dans sa partie distale, enfin 10^{11} - 10^{12} dans le colon, milieu anaérobie qui abrite la majorité des bactéries [3].

Plus de 99 % du microbiote intestinal est représenté par des espèces de 4 phyla : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria* [4] (figure 1 – tableau I). Cette flore intervient dans la dégradation de nutriments, en particulier dégradation de carbohydrates non digestibles, dans la synthèse de vitamines, la production de métabolites tels que les acides gras à chaîne courte SCFA (butyrate, isobutyrate, acétate, propionate), l'alpha-galatosylceramide et le polysaccharide A (PSA, produit par les *Bacteroides spp*), les métabolites du tryptophane qui ont tous des rôles dans l'activation immunitaire [14]. C'est dans l'iléon que les interactions entre flore et système immunitaire seront les plus importantes, facilitées par la proximité relative entre la lumière et les structures immunitaires. Dans la muqueuse colique, il existe moins d'organes immunitaires structurés, quelques follicules lymphoïdes isolés, et dans le chorion on retrouve essentiellement des cellules de la lignée B, provenant des plaques de Peyer sites inducteurs du GALT. L'épithélium colique est formé de plus de cellules à mucus (cellules caliciformes) que d'entérocytes, il est recouvert d'un mucus stérile très adhérent et dense, rendant les échanges avec la flore difficiles [14].

3. L'intestin, un organe et des structures qui prônent la tolérance

3.1. L'épithélium intestinal, principal acteur de l'immunité innée : compartimentalisation et reconnaissance

L'intestin est le passage obligé pour 99 % des éléments de l'environnement avec lesquels nous sommes en contact quotidiennement : ce que nous ingérons, mais également ce que nous inspirons. En effet, les mécanismes de défense non spécifiques des voies aériennes tels que la toux, les mouvements ciliaires des cellules épithéliales bronchiques font remonter les particules et les cellules phagocytaires le long des bronches vers la cavité buccale pour être ensuite dégluties et se retrouver dans l'intestin. Dans les conditions physiologiques, le rôle des réponses immunitaires muqueuses, innées et adaptatives, est de tolérer ces composants de notre environnement, par des mécanismes non inflammatoires : les IgA sécrétoires n'activent pas le complément, les principales cytokines des muqueuses sont immunosuppressives, comme le TGF- β (*Transforming*

Growth Factor- β) et l'IL-10 (interleukine-10), les cellules dendritiques favorisent les réponses tolérantes... Les réactions inflammatoires défensives, contre les agents pathogènes, sont rapidement régulées par des mécanismes immunomodulateurs [15].

Au niveau intestinal, les cellules épithéliales sont le principal acteur des fonctions de l'intestin. Les entérocytes, cellules majoritaires, possèdent des microvillosités permettant d'accroître la surface d'échange et de maximiser l'absorption des nutriments (400 m² de surface intestinale). Cependant, pour éviter la pénétration et la colonisation microbienne, les entérocytes établissent des jonctions serrées avec les cellules du voisinage. Par ailleurs, les entérocytes sont des acteurs essentiels de la réponse immunitaire innée et adaptative [15] grâce à l'expression de récepteurs de reconnaissance des structures de surface microbienne (*Toll-Like Receptors* TLR, *NOD-like receptor* NLR; cf § 4.2.1), et la synthèse de cytokines, de chemokines et de peptides anti-bactériens (défensines, cathélicidine...); ils interviennent comme première barrière de protection de l'organisme, en favorisant des réponses immunes adéquates, de tolérance ou de défense pour maintenir l'homéostasie intestinale.

D'autres cellules épithéliales, moins abondantes, limitent la pénétration microbienne : les cellules de Paneth et les cellules caliciformes. Les cellules de Paneth sont retrouvées au fond des cryptes spécifiques de la muqueuse intestinale, elles sécrètent des peptides anti-microbiens, protégeant les cellules souches à l'origine du renouvellement des cellules épithéliales intestinales [16]. Elles sont limitées à l'intestin grêle et sont absentes dans le colon : cette distribution serait responsable d'un gradient de densité et diversité bactérienne le long de ce tractus [14]. Les cellules caliciformes (goblet cells) sécrètent le mucus constitué de deux couches : l'une plus externe colonisée par la flore microbienne, l'autre au contact avec l'épithélium constituant une zone protégée ne contenant quasiment pas de germes. Cette compartimentalisation participe à la protection de l'épithélium, en minimisant le contact avec la flore commensale, dont certains germes peuvent devenir pathogènes, capables d'induire des réponses inflammatoires graves, chroniques ou à répercussion systémique [14].

3.2. Organisation des défenses spécifiques : Le MALT et le GALT [17,18]

Le système immunitaire associé aux muqueuses est un organe lymphoïde secondaire, au même titre que les ganglions et la rate. On retrouve des structures d'architecture similaire dans ces organes : des follicules primaires ou secondaires (c'est-à-dire ayant un centre germinatif), contenant des lymphocytes B, des cellules dendritiques folliculaires et quelques lymphocytes T ; entourant ces follicules, une zone contenant des lymphocytes T, des cellules dendritiques interdigitantes et quelques lymphocytes B. Dans l'intestin, ces structures font partie du GALT : il s'agit des ganglions mésentériques et des plaques de Peyer, du nom de l'anatomiste suisse Johann Conrad Peyer les ayant décrites la première fois en 1677. Physiologiquement, Les plaques de Peyer sont décrites principalement dans l'iléon, dans toutes les espèces et chez tous les individus d'une même espèce, mais elles peuvent se

multiplier en taille, en nombre et en localisation en fonction des besoins de réponses immunitaires intestinales. Elles sont les principaux sites inducteurs des réponses immunitaires muqueuses. À côté de ces structures, il y a un système immunitaire diffus, réparti dans le chorion (ou lamina propria) de toutes les muqueuses de l'organisme, constitué de plasmocytes à IgA, de lymphocytes T CD4+ (lymphocytes T auxiliaires) activés et mémoire provenant des plaques de Peyer, de cellules dendritiques tolérantes CD103+ : toutes des cellules impliquées dans la réponse immunitaire adaptative. Récemment, il a été identifié des cellules de l'immunité innée, les ILC (*innate lymphoid cells* – cellules lymphoïdes innées), réparties dans le chorion, les plaques de Peyer et les ganglions mésentériques [19]. Ces cellules jouent un rôle essentiel dans la formation des plaques de Peyer, le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale et également, précocement, dans les réponses aux germes pathogènes. Elles sont en relation étroite avec les cellules épithéliales et la flore commensale ; un des modes d'action des ILC est la synthèse d'IL-22, qui agit directement sur les cellules épithéliales pour leur faire synthétiser des peptides anti-bactériens, défensines β , RegIII β et RegIII γ (*Regenerating islet-derived protein 3*) en réponse à la stimulation par des germes pathogènes [19]. Enfin, des lymphocytes T, en majorité CD8+ activés, sont répartis entre les cellules épithéliales (lymphocytes intra-épithéliaux, environ 1 pour 4 à 10 cellules épithéliales), intervenant en première ligne de défense : élimination des cellules épithéliales modifiées (virus, stress...) par action cytotoxique rapide, réparation de l'épithélium (synthèse de TGF- β , KGF (Keratinocyte Growth Factor), limitation de la colonisation par les bactéries, favorisant les réponses humorales dans les muqueuses *via* le TGF- β . En effet, les principaux effecteurs de la réponse immunitaire muqueuse sont les IgA sécrétées synthétisées sous forme dimérique par les plasmocytes du chorion, sous l'influence du TGF- β . Elles ont de multiples rôles de défense de l'épithélium muqueux, en particulier en prévenant l'envahissement de cet épithélium et des tissus sous-jacents par les germes de la flore commensale ou par des germes pathogènes, selon une stratégie d'exclusion et non de recrutement du complément, de façon à ne pas agresser la muqueuse. Toute cette organisation permet d'une part de stimuler des réponses non inflammatoires et tolérantes vis-à-vis de la plupart des antigènes environnementaux et de notre flore commensale et, d'autre part, de développer des réponses efficaces et très régulées contre des antigènes pathogènes, pour maintenir l'homéostasie de nos muqueuses.

4. Interactions microbiote et système immunitaire associé à la muqueuse intestinale (GALT)

4.1. Mise en place du GALT : interactions microbiote-système immunitaire

Chez le nouveau-né, les muqueuses sont « vides » : peu de cellules immunitaires réparties dans le chorion, quelques lymphocytes B et des lymphocytes T inducteurs à des sites prédéterminés qui sont à l'origine des plaques de

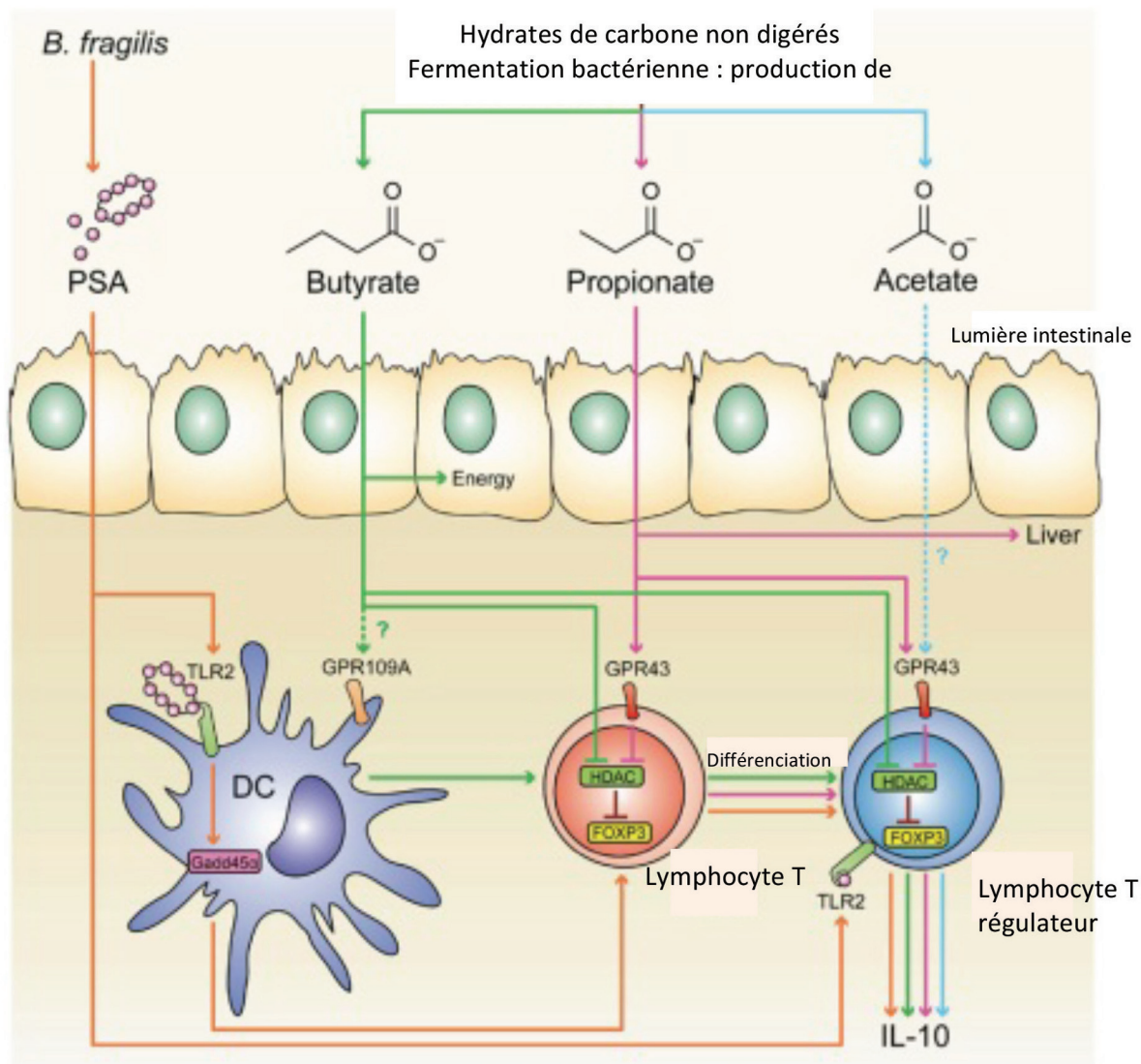
Peyer, et des ILC, cellules lymphoïdes innées. Les ganglions mésentériques, comme les autres ganglions, sont de petite taille, non activés. Les bactéries commensales colonisant l'intestin, coopèrent avec le système immunitaire dès la naissance et tout au long de la vie : au départ pour la mise en place des structures immunitaires [17] et ensuite pour le maintien d'un bon équilibre. Les modèles d'étude de ces interactions sont des souris axéniques, c'est-à-dire élevées dans un milieu stérile, dans lesquelles on introduit des éléments connus de la flore pour en étudier l'impact sur les réponses immunes (souris gnotobiotiques). Ces modèles ont permis :

- de comprendre la formation des plaques de Peyer et de follicules isolés, dans l'iléon et le colon segments les plus riches en bactéries, [17]
- de décrire le rôle de certaines bactéries et de leurs métabolites dans ces phénomènes de maturation [14]
- de mettre en évidence les interactions entre bactéries et les mécanismes régulant l'homéostasie

Le microbiote intestinal orchestre la maturation post-natale de la réponse immunitaire : les bactéries et leur hôte co-évoluent toute la vie pour maintenir des interactions à bénéfice mutuel. Il a été montré chez la souris, que les organes programmés, plaques de Peyer et ganglions mésentériques se développent sous la forme de quelques cellules, durant la période embryonnaire, donc en dehors de toutes stimulations antigéniques. En revanche, leur taille donc la stimulation des cellules de l'immunité, sera augmentée suite à des contacts antigéniques après la naissance [17]. Dans l'intestin, les antigènes sont essentiellement les germes constituant le microbiote qui colonisent les muqueuses dès la naissance ainsi que la flore cutanée de la mère acquise par exemple lors de la tétée. Ces antigènes favorisent des réponses immunitaires tolérantes ou inflammatoires régulées rapidement, limitant le développement excessif de certaines espèces bactériennes. Ce qui explique, en dehors des facteurs nutritionnels ou la présence d'oxygène, les modulations de composition de la flore dans les premières années de vie. Les structures isolées (follicules lymphoïdes isolés) ne se développent qu'après la naissance pendant la colonisation par les bactéries [17]. C'est une des caractéristiques les plus remarquables du GALT : une grande flexibilité qui permet d'adapter le nombre de site inducteur de réponse immune à la taille de la flore et également à la présence de germes pathogènes.

Depuis la meilleure connaissance de la nature des germes de la flore commensale intestinale, de nombreuses études montrent les activités immunomodulatrices directes ou indirectes du microbiote et de leurs métabolites. La maturation des réponses T intestinales paraît être la prérogative d'un nombre restreint d'espèces commensales capables de développer des interactions avec son hôte. Dans des modèles de souris gnotobiotiques, il a été montré de nombreuses interactions entre microbiote et système immunitaire : par exemple, les bactéries du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, parmi les premières à coloniser l'intestin du nouveau-né, ont des propriétés anti-inflammatoires en inhibant les facteurs de transcription de cytokines inflammatoires telles que l'IL-1 β , le TNF- α et l'IL-6 [20].

Figure 2 – Mode d'action des métabolites produits par certaines bactéries commensales sur les cellules immunocompétentes de chorion.



Certains métabolites dérivant de la digestion de molécules par les bactéries du microbiote ont une action sur la différenciation des lymphocytes T dans le chorion. C'est le cas du polysaccharide A (PSA) produit par *Bacteroides* spp ou les SCFAs (acides gras à courte chaîne : butyrate, acétate, propionate) produits suite à la digestion d'hydrates de carbone alimentaires par de nombreuses bactéries commensales. Ces composés agissent sur les cellules dendritiques (DC), sur les lymphocytes T en favorisant leur différenciation en lymphocyte T régulateur (d'après [21]) DC : cellule dendritique, SCFA : Short Chain Fatty Acid, PSA : polysaccharide A, TLR2 : Toll Like Receptor 2, GPR43 : G-protein coupled receptor 43

Le polysaccharide A (PSA) métabolite synthétisé par les *Bacteroides* spp, en particulier *B fragilis*, favoriseraient la production d'IL-10 et un profil de lymphocytes T régulateurs induits après activation de récepteurs à la surface des cellules dendritiques et de lymphocytes (figure 2) [21]. Mais c'est au sein de la classe des *Clostridia*, que l'on trouve les éléments du microbiote ayant des actions décisives sur le développement des réponses immunitaires au sein du GALT. Les Bactéries Filamenteuses Segmentées (SFB), installées dans l'iléon au moment du sevrage, sont de puissants inducteurs de cellules effectrices TH17, produisant de faible quantité d'IL-17 et d'IFN- γ donc une inflammation à bas bruit, suffisante pour éliminer

des germes compétiteurs potentiellement pathogènes et créer leur propre microniche au sein des muqueuses, mais trop faible pour induire des dommages intestinaux [22]. Cette production d'IL-17 et d'IFN- γ optimise les mécanismes locaux antibactériens, comme la synthèse d'IgA spécifiques et de peptides anti-bactériens (tel que le RegIII γ par les entérocytes), et permet de diminuer les risques infectieux. Inversement, ces réponses induites par les SFB peuvent servir à limiter leur population, évitant ainsi une colonisation excessive par cette bactérie. Les SFB favorisent également l'activation et le recrutement des lymphocytes intra-épithéliaux, impliqués dans les défenses anti-virales des cellules épithéliales muqueuses.

Toutes ces actions permettent la mise en place des réponses effectrices des muqueuses chez le nouveau-né, cette espèce disparaissant du microbiote adulte [14]. D'autres espèces de *Clostridium*, de par leur métabolisme, produisent des composants comme les SCFA, tels que le butyrate, acétate, propionate, favorisant le développement de lymphocytes T régulateurs dans les muqueuses (figure 2, d'après [21]). Ils induisent la synthèse de TGF- β , cytokine immunosuppressive favorisant des réponses tolérante et favorisant le switch vers les IgA. Il est également décrit que les SCFA peuvent agir directement sur les pathogènes en diminuant l'expression de gènes de virulence, par exemple sur *Salmonella enterica* et *S typhimurium* [7]. Enfin, les SCFA favorisent également la recirculation des lymphocytes T régulateurs vers le chorion du gros intestin [23]. De plus, les SCFA, et principalement le butyrate, exercent un effet trophique sur l'épithélium intestinal et colique, qui se traduit par une augmentation du nombre de cellules, de la hauteur et de la surface des villosités, de la profondeur des cryptes [24].

Il est donc mis en évidence une co-évolution du microbiote et de son hôte, responsable de l'homéostasie intestinale. Elle favorise dès la naissance la colonisation, suffisante mais pas excessive, des muqueuses par certaines espèces créant un écosystème équilibré non pathogène. Cette symbiose permet la tolérance de la flore et de nombreux éléments de l'environnement et la résistance à la colonisation par des espèces pathogènes en développant des réponses effectrices parfaitement régulées.

Cet équilibre délicat, sensible à tout excès, est mis en danger par nos modes de vie : modification des modes d'accouchement et de nutrition du nouveau-né, modification de notre environnement (xénobiotiques toxiques), usage d'antibiotiques, hygiène excessive, modification de notre alimentation ... Tous ces éléments d'évolution de nos modes de vie ont heureusement des effets positifs pour notre survie et notre confort mais ont été certainement trop rapidement mis en place et ont participé à l'émergence de nouvelles pathologies. En effet, un déséquilibre de notre flore semble être impliqué, en présence d'autres facteurs favorisant, dans des pathologies inflammatoires locales et systémiques [4, 25, 26].

4.2. Mécanismes de tolérance et défense dans le MALT en interaction avec le microbiote

4.2.1. Immunité innée : rôle prépondérant pour le maintien de l'homéostasie

Dans l'intestin, l'équilibre microbiote/hôte dépend des 2 protagonistes : on tolère le microbiote, mais il existe des stratégies de sélection active créant des niches écologiques pour le bon développement des espèces commensales. D'une part, les bactéries défendent elles-mêmes leur niche, empêchant la colonisation par d'autres germes (par le biais de produits de leur métabolisme, par synthèse de peptides anti-bactériens, par compétition pour les

nutriments...). D'autre part, la réponse innée joue un rôle essentiel, en particulier les cellules épithéliales intestinales qui ont développé des systèmes de reconnaissance et des systèmes effecteurs efficaces.

La stratégie centrale utilisée par l'hôte pour maintenir une relation homéostatique avec le microbiote est de minimiser le contact entre les microorganismes et la surface épithéliale pour limiter l'inflammation et les translocations bactériennes. Pour cela, l'épithélium est recouvert de deux couches de mucus, l'une interne ne contenant pas de bactéries, l'autre plus externe, le mucus contenant les bactéries mais également les IgA sécrétoires, des peptides anti-bactériens tels que les défensines, la cathélicidine produites constitutionnellement par les cellules épithéliales, le tout formant un bouclier efficace [7, 15, 27].

Les relations symbiotiques entre les bactéries intestinales et leur hôte passent par l'interaction entre les motifs microbiens très conservés, les PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Patterns*) ou DAMPs (*Danger Associated Molecular Patterns*) et des récepteurs spécifiques retrouvés au niveau des cellules épithéliales, les PRRs (*Pattern Recognition Receptors*). Les deux types principaux de PRRs sont les *Toll Like Receptors* (TLR) et les *NOD Like Receptors* (NLR, *Nucleotid Oligodimerization Domain-Like Receptor*) : les TLR se situent sur la membrane plasmique et à la surface des endosomes, tandis que les NLR sont intracytoplasmiques. L'activation des TLR/NLR conduit au recrutement d'une protéine adaptatrice cytoplasmique tel que MyD88 qui va assurer la transduction du signal jusqu'au noyau via NF- κ B (*Nuclear Factor-kappa B*). Ce signal induit l'activation d'un facteur de transcription de la réponse pro-inflammatoire aboutissant à la production de cytokines comme le TNF- α et l'IL-6. L'activation des TLR sur les cellules épithéliales intestinales par les bactéries commensales n'induit pas de réponses inflammatoires excessives, mais au contraire apporte des effets protecteurs. Cette stimulation continue par les bactéries permet de moduler la tolérance : c'est l'activation basale des TLR. Si les TLR sont toujours activés de façon basale, comment l'organisme discrimine-t-il les pathogènes de la flore commensale ?

Dans l'épithélium muqueux, il existe une compartimentalisation des TLR : les TLR au niveau apical, en contact avec la lumière intestinale, subissent l'activation basale tandis que les TLR exprimés au pôle baso-latéral (TLR5 reconnaissant la flagelline bactérienne), côté chorion, sont activés lors de l'effraction de la barrière épithéliale. Les germes pathogènes plus invasifs arrivent à pénétrer la barrière épithéliale, alors que la flore commensale n'en est pas capable dans les conditions physiologiques ; c'est un des mécanismes permettant la discrimination pathogènes/commensaux [15]. Il existe également une notion de seuil numérique des germes dans le chorion qu'ils soient pathogènes ou commensaux, suite à une brèche épithéliale, qui entraîne l'activation de mécanismes effecteurs par l'engagement des récepteurs TLR baso-latéraux. Enfin, la notion de « facteurs de virulence » exprimés par certains pathogènes, favorisant leur passage trans ou intra-épithélial : par exemple, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella spp* ont des gènes codant pour des facteurs de virulence favorisant leur adhérence aux cel-

lules épithéliales et facilitant leur dissémination dans les tissus de l'hôte [15]. Ces facteurs de virulence sont de forts activateurs de la réponse effectrice.

4.2.2. Réponses effectrices dans les muqueuses : immunité adaptative

Afin de maintenir un état de tolérance vis-à-vis des germes commensaux, des réponses immunitaires spécifiques sont constamment développées au sein des muqueuses. Les antigènes luminaux rentrent en contact avec les cellules du GALT par différentes voies.

- les cellules dendritiques CX3CR1+ du chorion émettent des dendrites entre les cellules épithéliales pour capturer des bactéries luminales et les présenter à des lymphocytes T dans les ganglions mésentériques : les antigènes luminaux sont alors cantonnés dans ces ganglions et ne se disséminent pas dans l'organisme.
- les antigènes luminaux peuvent être captés par des cellules spécialisées des plaques de Peyer, les cellules M, et pris en charge par les cellules immunitaires sous-jacentes (cellules dendritiques, lymphocytes T et B).
- les cellules épithéliales intestinales peuvent endocyter certains antigènes ce qui déclenchera une réaction par le biais de récepteurs spécifiques.

Ces différents modes de présentation des antigènes de la flore auront pour conséquence l'activation de mécanismes de tolérance : activation de cellules dendritiques tolérogènes CD103+, différenciation des lymphocytes T en lymphocytes T régulateurs synthétisant du TGF- β ou de l'IL-10, cytokines immunosuppressives, activation des lymphocytes B en plasmocytes à IgA sécrétoires dont les fonctions sont non inflammatoires. Tous ces effecteurs cellulaires seront redistribués dans les toutes muqueuses de l'organisme : c'est le phénomène de recirculation ou « homing » des lymphocytes permettant de protéger toutes les surfaces muqueuses à partir de quelques sites inducteurs intestinaux [28].

Dans certains cas, comme nous l'avons vu, le système immunitaire ne doit pas tolérer mais doit se défendre contre des agents pathogènes et résister à la colonisation. Ceux-ci sont reconnus par les cellules épithéliales et les cellules de l'immunité du fait de signaux de danger qui déclencheront des réponses effectrices [29] : facteur de virulence pour certains germes pathogènes [15], seuils quantitatifs pour d'autres comme cela peut l'être pour les bactéries commensales sortant de leur niche muqueuse et colonisant des compartiments protégés comme le chorion [27]. Les réponses doivent être rapides et efficaces, les réponses inflammatoires engendrées sont rapidement régulées pour ne pas créer d'inflammation chronique. Les cellules de l'immunité adaptative alors activées sont les lymphocytes Th17 : dans un contexte cytokinique TGF- β /IL-6 les lymphocytes T se différencieront en lymphocytes Th17 pro-inflammatoires, alors que dans un contexte cytokinique TGF- β /IL-2 ils se différencieraient en lymphocytes T régulateurs.

D'autres mécanismes effecteurs peuvent être activés, comme les ILC, cellules lymphoïdes innées, qui synthétiseront de l'IL-22 agissant sur les cellules épithéliales qui sécréteront alors des peptides anti-bactériens RegIII β et

RegIII γ [19]. Les IgA sécrétoires et la pièce sécrétoire ont un rôle essentiel d'élimination des pathogènes, dans la lumière et dans le chorion, par exclusion immune : formation de complexes immuns, dans le chorion, dans les vésicules de transcytose, dans la lumière, et élimination de ceux-ci dans le mucus [30].

Ces réponses sont rapides, efficaces et immédiatement régulées : tout redevient calme dans les muqueuses, les relations symbiotiques reprennent le dessus. Une perturbation prolongée de cet équilibre aura des conséquences pathologiques.

5. Rupture de tolérance : rôle des bactéries dans les pathologies inflammatoires

Comme nous l'avons vu, les bactéries commensales favorisent la mise en place des défenses immunitaires innées et adaptatives à la surface de la muqueuse intestinale. Cependant, elles représentent un danger potentiel pour l'hôte, car certaines espèces sont susceptibles d'induire des réactions inflammatoires délétères pour l'intestin. Ce paradoxe s'explique entre autres par le fait que les germes commensaux et les pathogènes partagent les mêmes motifs (PAMPs et DAMPs) capables d'induire une réaction inflammatoire, mais tout est histoire de contexte.

Le système immunitaire intestinal doit donc maintenir en permanence un état de tolérance vis-à-vis de la flore commensale, tout en étant capable d'induire des réponses pro-inflammatoires protectrices contre les pathogènes intestinaux. Une déficience des mécanismes de régulation va entraîner des perturbations des réponses immunes locales, pouvant avoir un retentissement local, voire général. Il a été montré dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), maladie de Crohn et rectocolite hémorragique, des différences de composition du microbiote en particulier la présence d'*Escherichia coli* adhérentes et invasives [3]. Il a été également montré des différences de réponses immunitaires locales, avec forte implication des lymphocytes Th17 et des cytokines IL-17 et IL-23 [25] sur un terrain prédisposé (mise en évidence de mutation de gène de certains récepteurs NLR comme NOD2) [31]. Ces réponses anormales à l'égard de bactéries commensales peuvent provoquer des atteintes liées à une inflammation intense et durable chez des sujets prédisposés. Il a été démontré qu'un défaut d'immunorégulation peut accroître une dérégulation des réponses immunitaires [25]. L'immunorégulation est un processus délicat orchestré de façon précise où se côtoient des mécanismes activateurs et inhibiteurs afin de combattre les germes pathogènes tout en maintenant l'intégrité de l'intestin. Une rupture de cette homéostasie est décrite chez certains patients atteints de MICI [12, 25, 31]

Les MICI sont traitées par des thérapies conventionnelles ciblant les voies du système immunitaire [anti-inflammatoires, corticoïdes, immunosuppresseurs], ayant de lourds effets secondaires. Depuis la meilleure connaissance des mécanismes physiopathologiques et en particulier le rôle

du microbiote, les traitements ciblant la flore commensale sont une alternative vers une médecine plus personnalisée [32]. La modulation du microbiote peut être obtenue par différentes approches :

- les antibiotiques, provoquant une réduction de la surpopulation microbienne,
- les probiotiques, microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate ont des effets bénéfiques
- les prébiotiques, substances alimentaires qui nourrissent un groupe sélectif de microorganismes vivants dans l'intestin
- la transplantation fécale, thérapie innovante qui vise à changer le microbiote du patient contre un microbiote de sujet sain [33], déjà utilisée dans le cadre d'infections intestinales à *Clostridium difficile* (déséquilibre de la flore, colonisation muqueuse)

L'ensemble des interventions probiotiques/prébiotiques/antibiotiques et transplantation fécale qui visent à modifier le microbiote intestinal et à contrôler les réactions inflammatoires locales pourraient compléter les stratégies plus conventionnelles (adaptation diététique, activité physique.)

dans le traitement et la prévention des maladies liées au mode de vie occidental.

6. Conclusion

Après la mise en place des réponses immunes muqueuses chez le nouveau-né, les relations hôte-microbiote perdurent toute la vie et nous permettent de supporter notre environnement sans réactions excessives dans les conditions physiologiques. Ce sont les acteurs de l'immunité innée qui jouent un rôle prépondérant dans les réponses de tolérance, mais des réponses effectrices parfaitement régulées au niveau des muqueuses nous protègent des germes pathogènes.

Un déséquilibre de la flore et des réponses immunitaires muqueuses, innées et spécifiques, sont impliqués dans le développement des pathologies inflammatoires intestinales. De nouvelles pistes de traitements de ces pathologies sont développées autour de la modulation du microbiote.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Botterel F, Angebault C, Bougnoux ME. Le mycobiome humain : actualités et perspectives. *Rev Fr Lab* 2015;469:67-73.
- [2] Foulongne V. Le virome humain. *Rev Fr Lab* 2015;469:59-65.
- [3] Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008;134(2):577-94.
- [4] Koboziev I, Reinoso Webb C, et al. Role of the enteric microbiota in intestinal homeostasis and inflammation. *Free Radic Biol Med* 2014;68:122-33.
- [5] Suau A, Bonnet R, Sutren M, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 1999;65(11):4799-807.
- [6] Filleron A, Jumas-Bilak E. Implantation du microbiote chez l'enfant : ontogénèse d'une niche écologique. *Rev Fr Lab* 2015;469:27-35.
- [7] Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014;157(1):121-41.
- [8] PrabhuDas M, Adkins B, Gans H, et al. Challenges in infant immunity: implications for responses to infection and vaccines. *Nat Immunol* 2011;12(3):189-94.
- [9] Langhendries JP. [Early bacterial colonisation of the intestine: why it matters?]. *Arch Pediatr* 2006;13(12):1526-34.
- [10] Guaraldi F, Salvatore G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:94.
- [11] Ericsson AC, Hagan CE, Davis DJ, et al. Segmented filamentous bacteria: commensal microbes with potential effects on research. *Comp Med* 2014;64(2):90-8.
- [12] Quevrain E, Maubert MA, Michon C, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut* 2016;65(3):415-25.
- [13] Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol* 2007;102(5):1178-86.
- [14] McDermott AJ, Huffnagle GB. The microbiome and regulation of mucosal immunity. *Immunology* 2013;142(1):24-31.
- [15] Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol* 2008;8(6):411-20.
- [16] Schroeder BO, Ehmann D, Pecht JC, et al. Paneth cell alpha-defensin 6 (HD-6) is an antimicrobial peptide. *Mucosal Immunol* 2015;8(3):661-71.
- [17] Eberl G, Lochner M. The development of intestinal lymphoid tissues at the interface of self and microbiota. *Mucosal Immunol* 2009;2(6):478-85.
- [18] Pabst R. The anatomical basis for the immune function of the gut. *Anat Embryol (Berl)* 1987;176(2):135-44.
- [19] Spits H, Cupedo T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annu Rev Immunol* 2012;30:647-75.
- [20] Reading NC, Kasper DL. The starting lineup: key microbial players in intestinal immunity and homeostasis. *Front Microbiol* 2011;2:148.
- [21] Hoeppli RE, Wu D, Cook L, et al. The environment of regulatory T cell biology: cytokines, metabolites, and the microbiome. *Front Immunol* 2015;6:61.
- [22] Gaboriau-Routhiau V, Rakotobe S, Lecuyer E, et al. The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity* 2009;31(4):677-89.
- [23] Kamada N, Nunez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology* 2014;146(6):1477-88.
- [24] Papillon E, Bonaz B, Fournet J. [Short chain fatty acids: effects on gastrointestinal function and therapeutic potential in gastroenterology]. *Gastroenterol Clin Biol* 1999;23(6-7):761-9.
- [25] Boschetti G, Nancey S, Kanjarawi R, et al. Réponses immunitaires au cours des MICI : implication de l'axe IL-23/Th17. *Hépatogastro* 2012;19:446-454.
- [26] Walsh CJ, Guinane CM, O'Toole PW, et al. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Lett* 2014;588(22):4120-30.
- [27] Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Immunol* 2010;10(3):159-69.
- [28] Pabst R, Reynolds JD. Peyer's patches export lymphocytes throughout the lymphoid system in sheep. *J Immunol* 1987;139(12):3981-5.
- [29] Gallucci S, Matzinger P. Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol* 2001;13(1):114-9.
- [30] Mantis NJ, Rol N, Corthesy B. Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. *Mucosal Immunol* 2011;4(6):603-11.
- [31] Rosenstiel P. Stories of love and hate: innate immunity and host-microbe crosstalk in the intestine. *Curr Opin Gastroenterol* 2013;29(2):125-32.
- [32] Scaldaferri F, Gerardi V, Lopetuso LR, et al. Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in IBD: their current usage and utility. *Biomed Res Int* 2013;2013:435268.
- [33] Choi HH, Cho YS. Fecal Microbiota Transplantation: Current Applications, Effectiveness, and Future Perspectives. *Clin Endosc* 2016. [Epub ahead of print]

Immunoglobulines G humaines polyvalentes : utilisation thérapeutique en 2016

Grégoire Jacques Noël Cozon^a

RÉSUMÉ

Les immunoglobulines polyvalentes IgG sont utilisées en thérapeutique humaine depuis plus de 60 ans à partir de la description des premiers déficits humoraux. D'autres indications dans les maladies auto-immunes ou inflammatoires sont apparues dans les années 80. Après un rappel historique, nous présentons les indications reconnues de l'utilisation de ces IgG, leurs mécanismes d'actions et les modalités d'utilisation actuelle par voie intraveineuse ou sous-cutanée.

Déficit immunitaire - immunoglobulines G - maladies auto-immunes.

SUMMARY

Polyvalent human IgG: therapeutic use in 2016

Polyvalent human immunoglobulines IgG are used in human diseases since fifties for primitive immunodeficiency. New indications in autoimmune and inflammatory diseases appeared in eighties. After a brief historical review, we discuss clinical indications of IgG, their mechanisms of action, and the intravenous or subcutaneous routes of clinical use of IgG.

Antibody deficiency - immunoglobulin G - Auto-immune diseases.

Liste des abréviations

AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
AP-HP	Assistance Publique Hôpitaux de Paris
CEDIT	Comité d'Évaluation et de Diffusion des Innovations Technologiques
DICV	Déficit immunitaire commun variable
DIP	Déficits immunitaires primitifs
DIS	Déficits immunitaires secondaires
Fab	Fragment antibody
Fc	Fragment Cristallisable ou Constant
FcγR	Récepteur au Fc des IgG
FDA	Federal Drug Administration
IgG IV ou IgIV	Immunoglobulines par voie intraveineuse
IgG SC	Immunoglobulines par voie sous-cutanée
IUIS	International Union of Immunological Societies
PTI	Purpura thrombopénique idiopathique
RBU	Référentiel national de bon usage.

^a Service de Rhumatologie et d'Immunologie Clinique

Hôpital Édouard Herriot, 69437 Lyon cedex 03

UFR Médecine Lyon Est, Université Claude Bernard Lyon

1,8 avenue Rockefeller 69008 Lyon.

* Correspondance

Gregoire.cozon@chu-lyon.fr

1. Introduction

Les immunoglobulines G (IgG) polyvalentes sont des produits dérivés du sang, manufacturés par des compagnies pharmaceutiques, utilisés en thérapeutique humaine depuis les années 50 avec d'abord une indication thérapeutique substitutive pour les déficits immunitaires puis à partir des années 80, des indications d'immunomodulation dans certaines maladies inflammatoires ou auto-immunes. Après un bref historique sur l'utilisation des IgG, nous verrons les différentes indications actuelles de leur utilisation puis leurs modes d'action, avant de discuter des différentes voies d'injection de traitement, classique par voie intraveineuse (IgG IV) et plus récente par voie sous-cutanée (IgG SC) et ses différentes modalités.

2. Historique

C'est en 1952 que le colonel Ogden Bruton décrit l'absence de gammaglobulines chez un garçon de 8 ans [1], aux antécédents de pneumopathies et d'infections bactériennes récurrentes des sinus et broncho-pulmonaires depuis l'âge de 4,5 ans, ayant développé 19 sepsis dont 10 septicémies à pneumocoques. La vaccination anti pneumocoque n'avait donné aucune réponse sérologique spécifique chez l'enfant. L'électrophorèse des protéines montrait une absence complète de gammaglobulines qui se corrigeait après des injections de gammaglobulines sous-cutanées répétées une fois par mois, permettant l'absence de toute infection pendant plus de 14 mois dès cette première publication. À partir de cette date, les déficits immunitaires en gammaglobulines ont été traités par des immunoglobulines injectables d'abord par voie intramusculaire puis par voie intraveineuse.

En 1981, une équipe suisse publie des résultats très encourageants d'une correction du purpura thrombopénique idiopathique (PTI) pédiatrique chronique (7 patients) ou

article reçu le 11 mars 2016, accepté le 11 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

aiguë (6 patients) après un traitement avec de fortes doses d'IgG IV, initié sur la constatation de l'amélioration de la thrombocytopénie chez 2 patients atteints d'agammaglobulinémie congénitale, traités par des IgG IV [2]. À partir de ces observations initiales dans le PTI, de très nombreux essais ont été réalisés dans les maladies auto-immunes ou inflammatoires, de l'utilisation des immunoglobulines injectables pour traiter ces pathologies. Ces indications thérapeutiques très nombreuses ont entraîné une augmentation très importante de la consommation d'immunoglobulines injectables conduisant à la mise en place progressive de recommandations pour l'utilisation de ces IgG dans des indications reconnues.

3. Indications

L'utilisation thérapeutique des IgG IV recouvre 2 domaines, d'une part les déficits immunitaires et d'autre part les maladies auto-immunes ou inflammatoires.

3.1 Les déficits immunitaires

3.1.1 Les déficits immunitaires primitifs

Les déficits immunitaires primitifs (DIP) ou secondaires (DIS) représentent les indications préférentielles bien qu'ils ne soient plus actuellement les principales indications en volume prescrit du fait du développement des autres indications. Le spectre des DIP croît chaque année d'environ 20 nouveaux déficits décrits dans la littérature et atteignait déjà 269 anomalies génétiques connues lors de la dernière réunion du comité d'experts des DIP en mars 2015 [3]. Parmi tous ces déficits (**tableau I**), 122 sont des déficits combinés des lignées lymphocytaires T et B ou des déficits humoraux, indications potentielles de traitement substitutif en immunoglobulines. La majorité des DIP congénitaux se manifeste dans la première enfance et sont diagnostiqués par les pédiatres. Néanmoins les déficits humoraux du groupe 3 de la classification IUIS (**tableau I**) peuvent se déclarer plus tardivement, en particulier le déficit immunitaire commun variable (DICC). Celui-ci est l'un des plus fréquents (prévalence comprise entre 1:50 000 et 1:25 000) qui n'apparaît avant 10 ans que dans 1/3 des cas plus souvent chez les garçons (39,8 %)

que chez les filles (27,9 %) [4]. D'autres déficits humoraux comme les déficits en sous-classes d'IgG ou les déficits en anticorps spécifiques ont souvent une révélation plus tardive. Le délai médian de diagnostic entre les premiers symptômes et la mise en route du traitement varie d'un pays à l'autre et est en moyenne de 4,1 ans sur l'étude européenne de 2212 patients atteints de DICC [4]. Certaines agammaglobulinémies peuvent être à révélation tardive comme ce patient sans aucun passé infectieux notable qui a présenté à 26 ans une première pneumopathie puis une seconde six mois plus tard à l'occasion de laquelle l'agammaglobulinémie fut découverte avec une absence totale de lymphocytes B sur le phénotypage lymphocytaire (données personnelles). Les manifestations cliniques retrouvées sont, par ordre décroissant [4], des pneumopathies (32 %), des manifestations auto-immunes (29 %), une splénomégalie (26 %), des dilatations des bronches (23 %), une maladie granulomateuse (9 %), une entéropathie (9 %), des tumeurs solides (5 %), des méningites ou encéphalites (4 %), un lymphome (3 %). Les manifestations cutanées sont rarement au premier plan mais la découverte d'une hypogammaglobulinémie chez un patient atteint d'un ulcère cutané infectieux chronique postopératoire (> 2 ans), sans autre manifestation infectieuse récurrente, nous a conduits à proposer un traitement substitutif d'IgG pendant 6 mois ce qui a permis une cicatrisation complète de l'ulcère qui n'a pas récidivé après l'arrêt des IgG injectables (données personnelles). Le déficit isolé en IgA, bien que plus fréquent (prévalence comprise entre 1/225 et 1/3 000), est le plus souvent asymptomatique et de découverte fortuite lors d'un dosage d'IgA, parfois à l'occasion d'un don du sang ou lors de pathologies auto-immunes ou lymphomateuses [5].

3.1.2 les déficits immunitaires secondaires

Les DIS recouvrent les déficits secondaires à des maladies hématologiques, à des infections virales, bactériennes ou parasitologiques touchant le système immunitaire, à des déficits induits par les traitements anti-mitotiques ou immunomodulateurs, à des déficits par carence nutritionnelle ou par troubles digestifs d'absorption ou fuite protéique. La préparation des IgG à partir d'un pool de sérum provenant de 1 000 et 40 000 donneurs, permet d'assurer, par des injections récurrentes chez le patient déficient en IgG, une protection vis-à-vis des principaux antigènes microbiens (viraux, bactériens, parasitaires) rencontrés dans une population générale. Il faut cependant noter que les préparations d'IgG ne protègent pas contre les nouveaux variants de certains pathogènes que la population de donneurs de sang n'a pas encore rencontrés, comme par exemple les nouveaux variants du virus de la grippe.

Les indications d'un traitement substitutif seront à la fois cliniques et biologiques. Seront substitués les patients qui présentent des infections graves (septicémie, méningite, etc.) ou des infections récidivantes de la sphère O.R.L. ou broncho-pulmonaires nécessitant des antibiothérapies répétées, associées à un déficit en IgG, en sous-classes IgG ou en anticorps spécifiques. Le but du traitement est de prévenir l'apparition de ces infections graves ou récidivantes par un apport régulier d'IgG injectables. Le rôle du laboratoire est important pour apprécier le déficit en IgG totales ou en sous-classes IgG, en anticorps anti-haemophilus ou anti-pneumocoque.

Tableau I – Classification de déficit immunitaire primitif (DIP) compilé par le comité d'experts des DIP de l'Union Internationale des Sociétés d'Immunologie (IUIS) [d'après [3]]

Classification	Anomalies génétiques connues
1 - Déficits immunitaires touchant l'immunité cellulaire et humorale	49
2 - Déficits combinés associés à un syndrome	45
3 - Déficits prédominants en anticorps	28
4 - Maladies par dérégulation immunitaire	37
5 - Déficits congénitaux des phagocytes (nombre et/ou fonction)	31
6 - Déficits de l'immunité intrinsèque et innée	32
7 - Désordres auto-inflammatoires	17
8 - Déficits en complément	20
9 - Phénocopies de DIP	10

Néanmoins c'est la clinique, avec la gravité ou la fréquence des infections, qui déterminera le bon moment pour la mise en place du traitement substitutif qui dans le cas des déficits immunitaires primitifs est un traitement à vie. En l'absence d'infections graves et avec une fréquence d'infections O.R.L. ou broncho-pulmonaires bactériennes inférieures à 6 par an, on peut surseoir à la mise en route d'un traitement lourd dont la compliance sera souvent fonction de l'amélioration du nombre d'infections. Certains patients avec des concentrations d'IgG basses (3,5 à 5 g/L), et une à 2 infections par an nécessitant une antibiothérapie, peuvent tout à fait faire l'objet d'une surveillance avec simplement la consigne de consulter rapidement un médecin en cas d'infection. En revanche, chez certains patients qui présentent des infections très fréquentes (au moins une fois par mois) nécessitant des antibiotiques, alors que la concentration d'IgG est modérément abaissée (entre 5 et 7 g/L), les complications à type de bronchectasies avec des bronchorrhées chroniques souvent purulentes seront des indications de traitement substitutif associé à de la kinésithérapie respiratoire pour limiter les infections, l'extension des dilatations des bronches et le risque d'insuffisance respiratoire secondaire.

3.2 Les maladies auto-immunes et inflammatoires

Elles représentent un autre cadre important de prescription des IgG polyvalentes à visée non plus substitutive anti-infectieuse mais à visée immunomodulatrice. Les IgG à visée immunomodulatrice représentent 75 % des IgG utilisées en thérapeutique aux États-Unis [6]. En France, certaines IgG ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans des indications reconnues suite à des études cliniques, réalisées en double aveugle contre placebo pour certaines indications. D'autres essais dans de nombreuses maladies auto-immunes spécifiques d'organe ou non ont été effectués sans que l'on ait un niveau de preuve suffisant pour l'obtention d'une AMM pour le traitement par IgG. Pour contenir une prescription exponentielle d'un médicament coûteux, le Comité d'Évaluation et de Diffusion des Innovations Technologiques (CEDIT) de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) avait établi des règles de bon usage des IgIV au sein de l'AP-HP avec une liste d'indications reconnues, d'indications admissibles à évaluer et d'indications non-reconnues. L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) puis l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a publié un référentiel national de bon usage (RBU) [7] des Immunoglobulines qui distingue quatre groupes d'affections repris dans un Bulletin de l'Académie de Médecine [8] (*tableau II*) :

- le groupe 1 : des indications ayant une AMM
- le groupe 2 : des situations temporairement acceptables (protocoles thérapeutiques temporaires établis pour une durée maximale de 4 ans, réévaluations à intervalles réguliers)
- le groupe 3 : Situations non acceptables (rapport bénéfice/risque défavorable pour le patient)
- le groupe 4 : Situations hors AMM pour lesquelles l'insuffisance de données ne permet pas d'évaluer le rapport bénéfice/risque.

À la suite de tensions dans l'approvisionnement des IgG, une hiérarchisation de leur utilisation a été publiée en 2013 avec des indications prioritaires (principalement les DIP avec défaut de productions d'anticorps, la maladie de Kawasaki, le PTI de l'enfant et de l'adulte avec un syndrome hémorragique viscéral, le syndrome de Guillain Barre de l'enfant) et des indications à réserver aux urgences vitales et/ou en cas d'échec des alternatives thérapeutiques. Aux États-Unis, certaines indications sont approuvées par la FDA (*Federal Drug Administration*) et d'autres sont reconnus avec certains critères [6]. On y retrouve les DIP et DIS de l'immunité humorale, diverses affections neuro-musculaires comme les polyneuropathies chroniques inflammatoires démyélinisantes, les neuropathies motrices multifocales, des affections hématologiques et des affections dermatologiques (*tableau II*). Les doses immunomodulatrices administrées dans ces indications de maladies auto-immunes ou inflammatoires sont 4 à 5 fois supérieures aux doses utilisées dans le traitement substitutif des DIP et DIS avec une dose totale de 2 g/kg d'IgG injectées en 2 à 5 jours tous les mois.

3.3 Autres indications en cours d'évaluation

D'autres indications potentielles sont explorées en recherche avec par exemple la maladie d'Alzheimer du fait de la présence naturelle d'anticorps anti peptide amyloïde- β dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien des sujets sains sans que les résultats soient encore très probants [9]. Les chocs septiques et les pneumopathies gravissimes nécrosantes pourraient être des indications à condition que le traitement soit initié très précocement dans les premières heures avant l'explosion du choc cytokinique [10].

4. Mécanismes d'action des immunoglobulines

les IgG polyvalentes issues de plusieurs milliers de donneurs ont d'abord été utilisées pour leurs effets anti-infectieux par leur capacité de reconnaître et d'inhiber les principaux pathogènes rencontrés dans l'espèce humaine. Leur utilisation chez les patients atteints d'un déficit primitif ou secondaire de l'immunité humorale a permis de réduire de manière importante les infections sévères comme les méningites, les ostéomyélites et les pneumopathies.

D'autres effets des immunoglobulines polyvalentes ont été décrits pour expliquer leur action dans les maladies auto-immunes ou les maladies inflammatoires. Dans la maladie de Kawasaki, par exemple, différents mécanismes agissent de manière concomitante à savoir l'inhibition des super-antigènes bactériens, la réduction de la production de cytokines inflammatoires, l'inhibition anti-idiotypique d'anticorps endothéliaux, le blocage des récepteurs Fc des immunoglobulines, la réduction de la production de monoxyde d'azote par les polynucléaires neutrophiles, la modulation des fonctions des cellules endothéliales, l'activation de lymphocytes T régulateurs [11]. Les effets ont été regroupés en fonction des différentes parties des immunoglobulines [6, 12].

Tableau II – Indications des immunoglobulines injectables.

Groupe 1 : Situations réglementaires avec une AMM	
Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques / moelle osseuse Maladie de Kawasaki Purpura thrombopénique idiopathique (PTI) chez l'adulte et l'enfant si risque hémorragique important ou avant un acte médical ou chirurgical pour corriger le taux de plaquettes Thrombocytopénie immune primaire (TIP) chez l'adulte et l'enfant si risque hémorragique élevé ou préalablement à tout acte chirurgical afin de corriger le nombre de plaquettes Neuropathie motrice multifocale (NMM) Polyradiculonévrites inflammatoires démyélinisantes chroniques (PIDC) Rétinochoroïdites de Birdshot Syndrome de Guillain et Barré	Traitement de substitution des déficits immunitaires primitifs et secondaires: - Agammaglobulinémie ou hypogammaglobulinémie congénitale - Déficits en sous-classes d'IgG associés à des infections à répétition 5 - Infections récurrentes chez l'enfant infecté par le VIH - Infections bactériennes récurrentes et VIH congénital. - Leucémie lymphoïde chronique ou Myélome, avec hypogammaglobulinémie secondaire sévère et infections récurrentes¹ après échec des antibiotiques prophylactiques
Groupe 2 : Situations réglementaires (Protocoles Thérapeutiques Temporaires = PTT ou Recommandations Temporaires d'Utilisation = RTU) Myasthénie aiguë dans les phases de poussées	
Myosites à inclusions avec dysphagie grave Pemphigoïde cicatricielle avec une atteinte muqueuse étendue ou atteinte oculaire ne répondant pas à l'association dapsone ou corticoïdes et immunosuppresseurs bien conduite (3 à 6 mois d'immunosuppresseurs) ou en cas d'intolérance à ces traitements Pemphigus en 3e intention après corticostéroïdes et des immunosuppresseurs, puis rituximab Syndrome catastrophique des antiphospholipides en cas d'échec du traitement anticoagulant IV associé à des corticostéroïdes en complément ou en alternative à la plasmaphérèse. Syndrome de Lambert-Eaton : formes auto-immunes non paranéoplasiques sous réserve de l'avis d'un centre de référence ou de compétence des maladies neuromusculaires Syndrome de l'homme raide réfractaire aux anti-convulsifs ou insuffisamment contrôlé par les anti-épileptiques Syndrome de Miller-Fisher	Vascularite systémique ANCA positive en cas de rechute ou de résistance à l'association corticoïdes et immunosuppresseurs Dermatomyosite cortico-résistante et après échec, dépendance, intolérance ou contre indication aux immunosuppresseurs (Méthotrexate, Azathioprine), (hors situations d'urgence mettant en jeu le pronostic vital) Polymyosite cortico-résistante et après échec, dépendance, intolérance ou contre indication aux immunosuppresseurs (Méthotrexate, Azathioprine) Désimmunisation des patients en attente de greffe rénale sous réserve de l'inclusion dans le registre de la base CRISTAL Prophylaxie du rejet humoral de greffe rénale chez les patients immunisés ou l'ayant été sous réserve de l'inclusion des patients dans le registre de la base CRISTAL Traitement curatif du rejet humoral de greffe rénale pour les patients ne pouvant être inclus dans un PHRC en cours dans cette situation, sous réserve de l'inclusion des patients dans le registre de la base CRISTAL Prophylaxie des sujets à risque après exposition à un cas confirmé d'herpès
Groupe 3 : Situations non acceptables	
Échecs récidivants de FIV avec ou sans anticorps anti-phospholipides Neutropénie auto-immune Prévention des infections chez le grand prématuré	Syndrome d'activation macrophagique (SAM) secondaire à une infection à EBV, SAM dans le cadre d'un lupus en poussées (hors-infection), SAM associé à un cancer, notamment un lymphome Sclérose En Plaques secondairement progressive
Groupe 4 : insuffisance de données	
Myosite à inclusions sans atteinte œsophagienne . Formes inflammatoires des myosites à inclusions . Encéphalomyélite aiguë disséminée . Encéphalite auto-immune de Rasmussen . Épilepsie de l'enfant : formes résistantes . Polyneuropathie associée à une gammapathie monoclonale IgM anti-MAG . Polyneuropathie associée à une gammapathie monoclonale non MAG . Sclérose En Plaques (hors SEP secondairement progressive) . Erythroblastopénie auto-immune	. Anémie hémolytique auto-immune . Avortements précoces récidivants en dehors du syndrome des antiphospholipides et des FIV . Syndrome d'activation macrophagique (SAM) secondaire à une pathologie infectieuse et maladie de Still compliquée de SAM . Maladie de Still (adulte et enfant) . Syndrome dégénératif secondaire aux histiocytoses langerhanciennes . Syndrome de Lyell . Dermate atopique sévère . Choc streptococcique
Source : https://omedit.sante-ra.fr/IGIV.htm	

Dans les préparations d'immunoglobulines polyvalentes, principalement des IgG, le fragment anticorps (Fab) est capable de reconnaître les agents pathogènes et les superantigènes ; certaines immunoglobulines sont des anticorps naturels, d'autres reconnaissent des protéines immuno-modératrices comme les cytokines, les chimio-kines, les fragments activés du complément. Enfin, le Fab des anticorps anti-idiotypiques est capable de bloquer des auto-anticorps solubles, de moduler les immunoglobulines de surface des lymphocytes B et les récepteurs T des lymphocytes T.

Le fragment Fc (fragment cristallisable) des immunoglobulines est capable :

- d'inhiber la phagocytose en bloquant l'accès de complexes immuns aux récepteurs Fc γ (Fc γ R) par fixation sur les récepteurs Fc γ activateurs ou inhibiteurs (Fc γ RIIA et Fc γ RIIB)
- de modifier l'affinité pour les récepteurs glucocorticoïdes,
- de réguler la maturation et la fonction des cellules dendritiques,
- d'inhiber la toxicité cellulaire dépendant d'anticorps
- de moduler la demi-vie des anticorps par son action sur le récepteur FcR néonatal.
- de se lier au complément pour inhiber le dépôt de composants activés du complément sur des tissus cibles
- de se lier aux récepteurs de lectines de type C sur les cellules dendritiques avec pour conséquence l'augmentation de l'expression des récepteurs Fc des IgG, inhibiteurs (Fc γ RIIB).

Enfin, on retrouve d'autres protéines dans les préparations d'immunoglobulines injectables comme des cytokines, des chimiokines, des récepteurs solubles de cytokines ou des antagonistes de récepteur, qui sont capables de moduler la réponse immunitaire.

5. Les voies d'utilisation des IgG

Différentes voies injectables ont été utilisées pour le traitement par les IgG. Initialement, la voie sous-cutanée puis intramusculaire ont été utilisées dans les années 50. Par la suite, la voie intraveineuse fut préférée du fait des larges volumes nécessaires pour les traitements substitutifs ou immunomodulateurs et des phénomènes douloureux en particulier avec la voie intramusculaire.

5.1 La voie intraveineuse

C'est la voie qui a été le plus utilisée et qui est encore utilisée préférentiellement par certaines équipes. Cette voie d'administration nécessite une hospitalisation des patients pendant le temps de la perfusion au moins pendant les 6 premiers mois de traitement. En effet, cette voie peut être à l'origine d'incidents et surtout d'accidents avec, en particulier, le risque de choc anaphylactique ou anaphylactoïde lors de l'induction du traitement. Cet accident est lié, le plus souvent, à la présence d'anticorps anti-IgA chez le patient perfusé. Ces anticorps anti IgA apparaissent chez des patients déficitaires en IgA qui s'immunisent à partir des préparations injectables d'IgG qui peuvent contenir des traces d'IgA. Le risque de ce type d'immunisation survient dans les premiers mois après la mise en route du traitement d'IgG injectables.

Cet accident peut aussi survenir dès la première injection d'IgGIV si le patient a déjà reçu des produits sanguins, parfois très longtemps avant la révélation du déficit immunitaire. Il se manifeste cliniquement dès les premières minutes d'une perfusion intraveineuse d'IgG par un malaise très rapide avec sensation de mort imminente et une tension artérielle effondrée. L'arrêt immédiat de la perfusion d'IgG et l'utilisation éventuelle d'amines vaso-actives, permet le plus souvent une rétrocession à l'ensemble de signes cliniques. Le traitement ultérieur de ces patients ayant présenté une réaction sévère, nécessitera l'utilisation d'IgG injectables déplétées en IgA (Gammagard®, Baxter). Il faut noter que même avec cette spécialité un choc est possible si le débit de perfusion est trop rapide en début de perfusion (données personnelles). Si le traitement est bien toléré, cette administration d'IgG par voie IV peut être réalisée à domicile avec la nécessité cependant d'une infirmière diplômée d'État pour mettre en place la voie veineuse et assurer la surveillance de la perfusion.

D'autres incidents sévères à type de réactions méningées dites aseptiques, de thromboses veineuses profondes ou artérielles ou d'insuffisances rénales aiguës, peuvent être rencontrés essentiellement chez les patients perfusés à doses immuno-modulatrices (2 g/kg) [13]. Des effets indésirables mineurs sont aussi souvent rapportés à type de céphalées, de réactions fébriles, de frissons, de vomissements, de modifications de la tension artérielle (hypo ou hypertension), de lombalgies, de douleurs articulaires ou musculaires. Les mesures de prévention de ces différents effets indésirables ont été bien décrites dans un article de la *Revue de médecine interne* [13].

5.2 La voie sous-cutanée

Une alternative à la voie intraveineuse est la voie sous-cutanée qui est possible en France depuis 2005 avec des IgG injectables dont la concentration est le plus souvent comprise entre 16,5 g/L et 20 g/L. Ces concentrations d'IgG permettent d'apporter un traitement par voie sous-cutanée avec un volume modéré pour une posologie de 100 mg/kg par semaine ou de 200 mg/kg par quinzaine. Ce mode d'administration peut très rapidement être administré à domicile après une éducation thérapeutique pendant les 2 ou 3 premières séances de traitement à l'hôpital. Il ne nécessite pas de voie veineuse, ce qui est un atout chez les patients au capital veineux parfois limité. La tolérance de ces injections sous-cutanées est généralement bonne avec comme effets indésirables essentiellement une douleur locale et un œdème au point d'injection, que l'on retrouve surtout pendant les 3 premiers mois. Au-delà de cette période, la résorption sous-cutanée est en général assez rapide, inférieure à 6 heures après la fin injection. Il n'a jamais été rapporté de choc anaphylactique à notre connaissance avec la voie sous-cutanée même chez les patients ayant présenté des réactions sévères à la voie intraveineuse. Cette voie de perfusion est favorisée par certaines équipes, en particulier, pédiatriques (Pr Y. Bertrand, communication personnelle), car elle permet une très bonne autonomie des patients, une grande liberté quant aux horaires de perfusion et une diminution importante des temps de déplacements et de perfusions.

L'injection sous-cutanée est réalisée le plus souvent en utilisant une pompe électrique, voire mécanique, qui permet l'injection de 10 à 50 mL d'IgG sous-cutanées en 30 à 90 min sur 1 à 3 points d'injection. Une alternative à l'utilisation de la pompe a été proposée ces dernières années avec l'utilisation d'une technique rapide « rapid push » de 5 à 20 mL d'IgG sous-cutanées à la seringue [14] que l'on peut utiliser à domicile 3 à 6 jours par semaine. Cette technique ne nécessite pas la location d'une pompe ce qui lui confère un coût moindre. Elle se rapproche de la production physiologique d'IgG du sujet normal, mais nécessite des injections plus fréquentes. L'utilisation de hyaluronidase recombinante [15] permet d'injecter toutes les 3 ou 4 semaines un grand volume d'IgG sous-cutanées avec une résorption rapide limitant l'œdème post-perfusion. Cette spécialité d'IgG sous-cutanées (HyQvia®, Baxalta) sera bientôt disponible en France. L'utilisation des IgG sous-cutanées a été limitée initialement au traitement des déficits immunitaires. Ce traitement apparaît maintenant dans les indications d'immunomodulation des maladies auto-immunes ou inflammatoires.

6. Conclusion

En conclusion, les IgG sont utilisés en thérapeutique humaine depuis plus de 60 ans avec de très bons résultats chez les patients atteints de déficits immunitaires et chez certains patients atteints de troubles immunologiques. Des travaux cliniques sont encore nécessaires pour mieux préciser les indications chez les patients atteints de maladies auto-immunes ou inflammatoires, ainsi que les posologies employées chez ces patients. L'utilisation de la voie sous-cutanée, avec ses différentes modalités, permet maintenant un traitement à domicile chez de très nombreux patients. La possibilité de proposer plusieurs modalités d'injection des IgG par voie intraveineuse ou sous-cutanée, peut permettre une meilleure qualité de vie des patients et donc une meilleure compliance à ce type de traitement le plus souvent chronique.

Conflits d'intérêts : Participation à des conseils scientifiques pour plusieurs laboratoires : CSL-Behring, Octapharma, Baxalta

Références

- [1] Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9:722-8.
- [2] Imbach P, Barandun S, d'Apuzzo V, et al. High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Lancet* 1981;1(8232):1228-31.
- [3] Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol* 2015; 35:696-726.
- [4] Gathmann B, Mahlaoui N, CEREDIH, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:116-26.
- [5] Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2010;30:10-6.
- [6] Gelfand EW. Intravenous immune globulin in autoimmune and inflammatory diseases. *N Engl J Med* 2012 22;367:2015-25
- [7] Référentiel national de Bon Usage (RBU) http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/40ea42e83a07a803b2e3def4274d1e66.pdf
- [8] Magy L. Current indications of polyvalent immunoglobulins. *Bull Acad Natl Med* 2012;196:49-60;
- [9] Relkin N. Intravenous immunoglobulin for Alzheimer's disease. *Clin Exp Immunol* 2014;178 Suppl 1:27-9.
- [10] Rouzic N, Janvier F, Libert N, et al. Prompt and successful toxin-targeting treatment of three patients with necrotizing pneumonia due to *Staphylococcus aureus* strains carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. *J Clin Microbiol* 2010;48:1952-5
- [11] Galeotti C, Bayry J, Kone-Paut I, et al. Kawasaki disease: aetio-pathogenesis and therapeutic utility of intravenous immunoglobulin. *Autoimmun Rev* 2010;9:441-8.
- [12] Lünemann JD, Nimmerjahn F, Dalakas MC. Intravenous immunoglobulin in neurology-mode of action and clinical efficacy. *Nat Rev Neurol* 2015;11(2):80-9.
- [13] Grenouillet-Delacré M, Longy-Boursier M. Effets indésirables liés aux immunoglobulines humaines normales: intérêts des mesures de prévention. *Rev Med Interne* 2008;29(H-S2):24-8
- [14] Shapiro RS. Subcutaneous immunoglobulin therapy given by subcutaneous rapid push vs infusion pump: a retrospective analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;111:51-5
- [15] Wasserman RL, Melamed I, Stein MR, et al. Recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous infusion of human immunoglobulins for primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:951-7

La maladie associée aux immunoglobulines G4

Stéphane Durupt^a, Quitterie Reynaud^a, Jean Christophe Lega^a, Isabelle Durieu^a

RÉSUMÉ

La maladie associée aux IgG4 est une entité de reconnaissance récente. Elle se caractérise par l'atteinte d'un ou de plusieurs organes avec cliniquement des lésions tumorales et histologiquement un infiltrat lymphoplasmocytaire, associé à une fibrose. Dans le sang, dans près de 70 % des cas, on retrouve une augmentation de la concentration des IgG4.

Les principaux organes atteints sont le pancréas (pancréatite auto-immune de type 1), les voies biliaires, les glandes salivaires et lacrymales, le rétro-péritoine, mais quasiment tous les organes peuvent être atteints. La physiopathologie est encore incomplètement comprise et implique de nombreux mécanismes de l'immunité innée et acquise.

Le diagnostic actuel repose sur une connaissance des principaux organes atteints, le dosage sérique des IgG4 et sur une analyse histologique complète et rigoureuse. La quantification des plasmablastes semble prometteuse particulièrement en cas de dosage des IgG4 normal.

La maladie associée aux IgG4 est très cortico-sensible. Dans les situations où le traitement est insuffisant, le rituximab est un traitement proposé.

**IgG4 - maladie associée aux IgG4 - fibrose -
pancréatite auto-immune - plasmablaste.**

SUMMARY

Immunoglobulin G4- related disease

Immunoglobulin G4- related disease (IgG4-RD) is a recent entity. It is characterized clinically, by involvement of one or more organs with tumor-like lesions and lymphoplasmablast infiltrate associated with fibrosis on biopsies. Elevated serum IgG4 concentration is found in many but not all patients. The main organs affected are the pancreas (type 1 autoimmune pancreatitis), bile ducts, salivary and lacrimal glands, retro-peritoneum, but all organs can be affected. The IgG4-RD pathophysiology remains incompletely understood and involves many mechanisms of innate and acquired immunity. The current diagnosis is based on knowledge of the main organs affected, serum IgG4 concentration and a rigorous histological analysis. Quantification of circulating plasmablasts looks promising especially in patients with normal IgG4 concentration in serum. IgG4-RD is a steroid-sensitive disease. Others immunosuppressive treatments, as rituximab, could also be proposed.

**IgG4 - Immunoglobulin G4-related disease - fibrosis -
autoimmune pancreatitis - plasmablast.**

1. Introduction

La maladie associée aux IgG4 est une entité de connaissance récente [1]. Il s'agit d'une maladie chronique, fibroinflammatoire qui se caractérise par des lésions cliniques le plus souvent d'allure pseudo-tumorale, avec en histologie un important infiltrat lympho-plasmocytaire, une fibrose et fréquemment mais pas systématiquement une augmentation de la concentration sérique des immunoglobulines G4 (IgG4).

Liste des abréviations

ENA	<i>extractible nuclear antigen</i>
FRP	fibrose rétro-péritonéale
GMP	glomérulonéphrite membranoproliférative
GPA	granulomatose avec polyangéite
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
IgG4	Immunoglobuline G4
LNH	lymphome non Hodgkinien

^a Service de Médecine Interne

Centre Hospitalier Lyon Sud,
165, chemin du Grand Revoyet,
69495 Pierre Bénite.

* Correspondance

stephane.durupt@chu-lyon.fr

C'est au début des années 2000 que la maladie a été identifiée chez des patients présentant une pancréatite auto-immune [2]. Par la suite, la maladie associée aux IgG4 a été décrite comme pouvant quasiment tous les organes. Les atteintes les plus fréquentes concernent les glandes salivaires, le pancréas, les voies biliaires, le rétro-péritoine et la glande thyroïde. Parallèlement à une meilleure connaissance de cette maladie, des pathologies touchant un seul organe, et connues de longue date dans la littérature médicale, ont pu être rattachées à la maladie associée aux IgG4 : syndrome de Mikulicz, tumeurs de Küttner (sialadénite chronique des glandes sous-maxillaires), ou thyroïdite de Riedel. Les pseudotumeurs inflammatoires, les fibroses médiastinales et/ou rétro-péritonéales, la pathologie inflammatoire aortique, ont également au cours de ces dernières années pu être décrites au cours de la maladie associée aux IgG4 [3].

Les connaissances sur cette entité ont considérablement évolué au cours des dernières années [4]. Les publications de séries consécutives de patients ont permis une meilleure connaissance de la multiplicité des organes pouvant être atteints. Cependant la présentation parfois déroutante et le diagnostic parfois difficile sont source de retard diagnostique [5].

article reçu le 8 février 2016, accepté le 21 mars 2016

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

2. Les immunoglobulines G4

Les IgG4 représentent moins de 5 % du total des IgG chez le sujet en bonne santé, mais leur concentration normale varie de 10 à 1350 mg/L (extrême variabilité interindividuelle). Néanmoins pour un individu donné, la concentration d'IgG4 est habituellement stable.

Du point de vue biochimique, les IgG4 se comportent comme de curieux anticorps ; en effet si elles sont sécrétées à partir des plasmocytes dans une conformation classique (deux chaînes lourdes γ et deux chaînes légères κ ou λ associées par des ponts disulfures), des modifications conformationnelles, du fait de l'instabilité des ponts disulfures entre les chaînes lourdes, surviennent secondairement. Des interactions entraînent une transformation par échange entre IgG4 de moitié de molécules. Ceci aboutit à une séparation du fragment Fab des anticorps qui de bivalents deviennent monovalents et de ce fait perdent un certain nombre de leur capacité à lier l'antigène. Ceci diminue également leur capacité à former des complexes immuns [6]. Par ailleurs le fragment Fc des IgG4 a une faible affinité pour les récepteurs gamma des IgG et une faible capacité de liaison avec le C1q ce qui n'autorise pas l'activation du complément par sa voie classique. L'ensemble de ces propriétés des IgG4 contribue à la fonction anti-inflammatoire normale de cette immunoglobuline.

Physiologiquement, la réponse IgG4 peut être induite par une exposition prolongée ou répétée aux antigènes. Ceci est particulièrement bien connu dans les phénomènes allergiques où l'association des IgG4 avec les IgE est bien classique. L'une comme l'autre de ces molécules sont contrôlées par une réponse lymphocytaire T de type Th2 [7].

Une augmentation des IgG4 supérieure à 1350 mg/L est une aide au diagnostic pour une suspicion de maladie associée aux IgG4 chez un patient présentant une symptomatologie clinique compatible. Toutefois cela n'est absolument pas spécifique et nombre de pathologies infectieuses, inflammatoires ou néoplasiques s'accompagnent d'une augmentation sérique des IgG4 [8]. À cela il faut ajouter que des pathologies qui pourraient en imposer pour une maladie associée aux IgG4 peuvent s'accompagner d'une infiltration plasmocytaire IgG4 des organes impliqués, ce qui complique parfois l'analyse histologique, qui doit rester rigoureuse et ne pas se contenter que de ce simple critère. Ainsi dans la granulomatose avec polyangéite (maladie de Wegener) qui parfois présente des similitudes cliniques avec la maladie associée aux IgG4, certains auteurs retrouvent la présence de cellule IgG4+ dans les biopsies chez 18 % des 43 patients analysés [9].

La maladie associée aux IgG4 laisse encore quelques questions sans réponse et parmi celles-ci, son mécanisme pathogénique. On ne sait toujours pas si les IgG4 sont pathogènes ou si leur présence n'est que la traduction visible d'un processus fibro-inflammatoire sous-jacent.

3. Les plasmablastes

Les plasmablastes sont des cellules dérivées de la lignée B, précurseurs des plasmocytes, caractérisés par un phénotype CD19lowCD20-CD38+CD27+. Chez un sujet en bonne

santé, ils sont rarement présents dans le sang circulant, mais peuvent être retrouvés brièvement en cas d'infection ou lors d'une vaccination. En revanche, en cas de pathologie immunologique (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux systémique), la présence de plasmablastes circulants est décrite. Dans la maladie associée aux IgG4, les plasmablastes circulants sont élevés, même chez les patients dont les concentrations d'IgG4 sériques sont normales. Cela en fait donc un biomarqueur de la maladie très sensible pour le diagnostic. La valeur médiane des plasmablastes chez les sujets sains est de 94/mL (1-653/mL). Une valeur de plus de 900/mL a une sensibilité de 95 % et une spécificité de 82 % pour le diagnostic de la maladie associée aux IgG4 et surtout des valeurs prédictives positives et négatives respectivement de 86 et 97 %. En outre, la quantification des plasmablastes circulants semble très utile pour apprécier la réponse thérapeutique et pour déterminer la nécessité de reprise d'un traitement en cas d'utilisation du rituximab [10].

4. Pathogénie

La pathogénie de la maladie associée aux IgG4 est loin d'être élucidée et on ne connaît actuellement que quelques pièces d'un puzzle complexe [3].

Ainsi certaines susceptibilités génétiques ont été rapportées comme associée aux pancréatites dans la population japonaise ; c'est le cas des haplotypes HLA-DRB1*0405 et HLA-DQB1*0401.

Chez certains patients, il existe une réaction antigène-anticorps avec formation de complexes immuns circulants et activation de la voie classique du complément expliquant la baisse des fractions C3 et C4 souvent détectée dans la maladie. Le ou les antigènes cibles restent inconnus même si des candidats ont été rapportés : lactoferrine, inhibiteur de la sécrétion de trypsine pancréatique, anhydrase carbonique de type II et plus récemment un peptide d'*Helicobacter pylori* (Hp) qui présente une homologie avec certains antigènes des acini pancréatiques. Une fois la réponse immunitaire générée au cours d'une infection par Hp, un mécanisme de mimétisme moléculaire entre antigène de Hp et antigène des acini pourrait être à l'origine de la destruction de ceux-ci.

La régulation de la production des IgG4 est complexe impliquant les mécanismes de l'immunité innée et acquise. La stimulation des Toll-Like récepteurs et des NOD-Like récepteurs, (en particulier NOD-2), tous des récepteurs de reconnaissance de motifs bactériens, entraînent une augmentation de la sécrétion des IgG4 chez des patients présentant la maladie. Par ailleurs, l'exposition chronique antigénique stimule le switch IgG1 vers les IgG4 sous la dépendance d'une réponse cytokinique Th2. Des modifications de la réponse Th2 impliquant des lymphocytes T régulateurs pourraient être ainsi impliquées dans la pathogénie de la maladie associée aux IgG4. Il semble en outre qu'il y ait une activation des lymphocytes T régulateurs, contrairement aux maladies auto-immunes classiques, et l'on retrouve des concentrations importantes de TGF- β , cytokine qui joue un rôle important dans la fibrose retrouvée. Le rôle précis des IgG4 dans la physiopathologie de la maladie n'est absolument pas

Tableau I : Atteintes principales rencontrées dans les formes systémiques de maladie associée aux IgG4 et principaux diagnostics différentiels [d'après 11].

Atteintes	Manifestations cliniques	Diagnostics différentiels
Pancréas et Voies biliaires 41 %	Pancréatite, cholangite sclérosante, cholécystite	Cancer pancréas, cholangiocarcinome
Glandes lacrymales et salivaires 40 %	Sialadénite sous maxillaire, parotidite, uni ou bilatérale	Goujerot-Sjogren, sarcoïdose
Ganglionnaire 27 %	Adénopathies	LNH, Métastase, Castleman
Orbitaire et ophtalmique 22 %	Pseudotumeur orbitaire, dacryocystite	GPA, sarcoïdose, LNH, Basedow
Rétropéritoine 13 %	Fibrose rétropéritonéale, périaortite	Erdheim-Chester, infections, post radiothérapie, médicaments...
Poumon, plèvre et médiastin 13 %	Nodules, fibrose interstitielle, épaississement pleural	Cancer, sarcoïdose, GPA
Rénale 13 %	Néphropathie tubulo-interstitielle, GMP	GPA, sarcoïdose, Castleman
Cardiaque et aortique 9 %	Péricardite constrictive, périaortite, anévrisme	Syphilis, Takayasu, Kawasaki
Neurologique 3 %	Pachyméningite, hypophysite	Sarcoïdose, GPA, LNH
Thyroïde	Thyroïdite	
Prostate, testicules, seins 2 %	Prostatite, mastite, orchite	Infections, cancer
Tube digestif	Pseudo tumeur	Cancer
Peau	Nodules, lésions érythémateuses	

GMP : glomérulonéphrite membranoproliférative ; **LNH** : lymphome non Hodgkinien ; **GPA** : granulomateuse avec polyangéite

identifié. L'hypothèse la plus habituellement retenue est celle que les IgG4 soient présentes en réponse à un phénomène inflammatoire de stimulation primitive qui n'est pas encore connu et qui pourrait d'ailleurs être différent d'un individu à un autre.

5. Aspect Clinique

5.1. Généralités [11]

La maladie associée aux IgG4 a été décrite comme pouvant toucher quasiment tous les organes et plus de 40 types d'atteintes différentes ont été rapportées (*tableau I*). Néanmoins certains sites sont atteints plus fréquemment : pancréas, voies biliaires, glandes salivaires, orbite et rein, atteinte aortique et rétro-péritonéale [12]. Sur un total de près de 4 000 patients rapportés, près de 75 % d'entre eux sont d'origine asiatique et plus précisément japonaise. Certains patients ont une pathologie mono-organique qui peut être évolutive sur de nombreuses années. D'autres patients peuvent présenter une atteinte multi-organique, d'allure systémique, avec une atteinte au-devant de la scène et un ou plusieurs autres organes atteints mais de façon moins évidente et qui ne seront découverts que dans un inventaire étiologique complémentaire. C'est le cas, par exemple, des patients atteints de pancréatites auto-immunes qui ont été les premières manifestations bien décrites de cette entité. Chez 30 % d'entre eux, un inventaire complémentaire met en évidence une atteinte tubulo-interstitielle rénale se manifestant par une protéinurie modérée et une hématurie d'origine non glomérulaire. L'atteinte de plusieurs organes peut être présente dès le diagnostic ou peut se faire de façon chronologique au cours de plusieurs mois ou de plusieurs années. Dans le registre national français multicentrique, le nombre moyen d'organes atteints par patient est de 3.5 (extrême 1 à 7) [13].

La maladie associée aux IgG4 est une maladie plutôt masculine et même si les informations épidémiologiques sont rares et éparpillées, la majorité des données montre une atteinte qui concerne plutôt l'homme d'âge mûr avec un sex-ratio homme/femme de 5 pour la pancréatite associée aux IgG4. Ces données ne sont pas extrapolables aux autres atteintes et, par exemple, dans les sialadénites le sex-ratio s'équilibre autour de 1.

Dans près de 40 % des maladies associées aux IgG4, on retrouve une maladie allergique, qu'elle soit cutanée (eczéma), sinusienne ou bronchique (asthme). Une hyperéosinophilie sanguine modérée est parfois mise en évidence. La présentation clinique est souvent une présentation tumorale qui en impose en premier lieu souvent pour une pathologie néoplasique ou une maladie immunologique (vascularite, granulomateuse). Néanmoins, il faut noter que le plus souvent, cette présentation contraste avec un état général conservé, une absence de fièvre et un syndrome inflammatoire minime, voire absent. Au niveau biologique, les patients présentent habituellement une augmentation polyclonale des immunoglobulines avec une augmentation de la concentration sérique en IgG4 qui peut aller jusqu'à plus de vingt fois la normale. On considère qu'une valeur d'IgG4 sériques supérieure à 1 350 mg/L est hautement spécifique de la maladie associée aux IgG4. La sensibilité n'est par contre pas absolue et dans certaines séries bien documentées de maladies associées aux IgG4 (sur des critères histologiques), près de 30 % d'entre eux n'avaient pas de concentration élevée d'IgG4. La concentration sérique d'IgG4 semble d'autant plus élevée que le patient présente simultanément plusieurs atteintes d'organes. La présence d'anticorps anti-nucléaires sans spécificité est retrouvée une fois sur deux chez les patients atteints d'une maladie associée aux IgG4. En revanche, les anticorps anti ENA (SSA, SSB...) sont habituellement absents. Le facteur rhumatoïde est positif chez 16 % des patients.

5.2. Le pancréas

L'atteinte pancréatique au cours de la maladie associée aux IgG4 est la mieux documentée puisque c'est cette localisation qui a été identifiée dès les années 1995 sous forme d'une pancréatite considérée à l'époque comme auto-immune (type 1 des pancréatites auto-immunes) [14]. Quelques années plus tard, l'analyse des sous-classes d'IgG permet de retrouver l'augmentation des IgG4 à l'origine de l'hyper-gammaglobulinémie qui accompagnait cette présentation clinique. Dans les années qui suivirent, la même équipe japonaise, ainsi que d'autre part la suite, va rapporter chez certains patients atteints de pancréatite, les multiples atteintes qui sont maintenant décrites dans la maladie associée aux IgG4 [15]. Le cadre nosologique de la maladie systémique associée aux IgG4 était né. Cette pancréatite correspond à une atteinte sclérosante lymphoplasmocytaire de l'organe. Il s'agit d'une maladie essentiellement masculine dont la présentation est le plus souvent pseudo-tumorale qui bien évidemment oriente dans un premier temps vers un cancer pancréatique. Les douleurs et l'ictère sont présents deux fois sur trois. Une insuffisance pancréatite exocrine est tout à fait classique et dans 50 % des cas on retrouve également une atteinte endocrinienne avec un diabète [16]. Des critères diagnostiques associant des données cliniques, biologiques, radiologiques et histologiques ont ainsi été proposés. Bien évidemment la mise en évidence d'autres lésions concomitantes compatibles dans le cadre d'une maladie associée aux IgG4 est une grande aide diagnostique. Le dosage des IgG4 va également être un élément important d'orientation. Leur sensibilité n'est pas absolue toutefois, variant de 77 % (série de malades japonais) à 81 % (série de malades américains). Leur spécificité n'est pas non plus absolue et 4 à 7 % des malades selon les séries ont une augmentation de leur concentration d'IgG4 en cas de cancer du pancréas [17].

En radiologie, un œdème diffus du pancréas sur une tomographie sans injection, rehaussé tardivement par le produit de contraste associé à un aspect de « pseudo-capsule » hypodense péri-pancréatique est évocateur. Néanmoins, des formes localisées d'atteinte du pancréas peuvent être retrouvées rendant alors difficile la différenciation avec une tumeur maligne du pancréas. C'est surtout une nouvelle fois l'histologie qui sera discriminante avec des biopsies du pancréas ramenant suffisamment de matériel pour, d'une part éliminer un cancer pancréatique, et d'autre part, mettre en évidence les lésions histologiques caractéristiques de la maladie [18,19].

5.3. La voie biliaire

L'atteinte de la voie biliaire principale sous la forme d'une cholangite sclérosante est possible au cours de la maladie associée aux IgG4. Elle se révèle par un ictère cutanéomuqueux dans 2/3 des cas. Elle peut être isolée posant alors le diagnostic différentiel d'une cholangite sclérosante primitive ou d'un cholangiocarcinome. Dans près de 80 % des cas, l'atteinte des voies biliaires est associée à l'atteinte pancréatique des IgG4.

La vésicule biliaire peut également être atteinte et des tableaux de cholécystites alithiasiques sont rapportés [20, 21].

5.4. Le foie

L'atteinte hépatique dans la maladie associée aux IgG4 se fait essentiellement, mais pas seulement, par le biais d'une cholangite, et l'atteinte plus diffuse au niveau hépatique a même fait suggérer le terme d'hépatopathie-IgG4. La présentation clinico-biologique est donc non spécifique et une cytolysé et/ou une cholestase ictérique ou non, selon le degré d'atteinte des hépatocytes et/ou voies biliaires, est alors retrouvée. Cette présentation comparable à celle d'une hépatite auto-immune ou d'une cholangite se caractérise par l'absence habituelle d'auto-anticorps hépatiques ou d'anticorps anti-mitochondries. Histologiquement de nombreuses anomalies peuvent être mises en évidence : inflammation avec lésions d'hépatite, oblitération des voies biliaires, hépatite lobulaire ou cholestase canaliculaire [8]. La présentation sous forme d'une pseudotumeur inflammatoire du foie est également possible [22].

5.5. Les glandes salivaires et lacrymales

Leur atteinte est habituelle dans la maladie ; ainsi dans les formes systémiques de maladie à IgG4, l'atteinte salivaire est retrouvée dans près de 40 % des cas. Les sialadénites chroniques sclérosantes sous mandibulaires (tumeur de Küttner) et les syndromes de Mikulicz (atteinte bilatérale symétrique des glandes lacrymales et salivaires parotidiennes et sous mandibulaires) sont des présentations et des dénominations actuellement reclassées dans la maladie des IgG4 du fait d'un profil histologique tout à fait comparable [23]. Cliniquement, hormis la présentation tumorale, 30 % des patients présentent un syndrome sec. Celui-ci répond assez bien à la corticothérapie contrairement à celui touchant les patients atteints d'un syndrome de Gougerot Sjögren.

L'atteinte ophtalmologique peut prendre le masque soit de tumeur pseudo-inflammatoire orbitaire soit de dacryo-adénite chronique sclérosante. Dans le premier cas, l'atteinte pseudo-tumorale touche les glandes lacrymales, mais aussi les muscles extra-oculaires, possiblement la rétine ou le nerf optique. L'extension peut se faire au niveau du sinus caverneux ou au niveau de la cavité orbitaire et donne des tableaux d'allure tumorale, parfois inquiétants, faisant le plus souvent discuter une pathologie néoplasique, un lymphome ou une atteinte dans le cadre d'une vascularite granulomateuse de type maladie de Wegener.

L'atteinte des glandes lacrymales entraîne habituellement une hyperplasie de celles-ci, bilatérale, dans la majorité des cas associée à une atteinte des glandes salivaires même si des cas purement localisés au niveau des glandes lacrymales ont été rapportés [24].

5.6. Le rétro-péritoine

Une fibrose rétro-péritonéale (FRP), pouvant entraîner un syndrome obstructif essentiellement urinaire avec urétérohydronéphrose est une pathologie rare, mais souvent de diagnostic difficile compte tenu d'un abord histologique complexe et qui fait souvent discuter une localisation rétro-péritonéale d'une hémopathie. La FRP se situe plutôt en périaortique (83 %) et en périiliaque (67 %) mais aussi dans des localisations plus inhabituelles (autour de la veine cave, pré sacré, rétro vésicale, péri rectale). Dans le même ordre d'idée, des mésentérites sclérosantes, parfois pseudo-tumorales ont également été rapportées comme étant une présentation

possible de la maladie associée aux IgG4. Néanmoins 2/3 de ces fibroses sont considérées comme idiopathiques et les corticoïdes sont souvent très efficaces. Le spectre de la maladie associée aux IgG4 s'est élargi par la mise en évidence au niveau d'un certain nombre d'entre elles, d'une infiltration lympho-plasmocytaire avec une discrète hyperéosinophilie, des oblitérations vasculaires et la présence de plasmocytes IgG4 positifs. Certains auteurs suggèrent que la non-réponse aux corticoïdes, le plus souvent du fait d'une fibrose déjà très importante pourrait représenter des formes vieilles de fibroses rétro-péritonéales associées aux IgG4 [25].

5.7. Les reins

Dans les présentations systémiques de la maladie, l'atteinte rénale est notée dans 13 % des cas [26]. Une néphropathie tubulo-interstitielle est la présentation la plus habituelle de l'atteinte rénale associée aux IgG4. Des glomérulonéphrites membranueuses ou membranoprolifératives, des néphropathies à IgA sont plus rarement retrouvées. Une pseudotumeur inflammatoire du rein est également possible [27].

Une protéinurie modérée, parfois néphrotique mais orientant dans ce cas vers une glomérulonéphrite membraneuse, une hématurie microscopique ou une insuffisance rénale doivent être recherchées au cours de la maladie des IgG4 car l'atteinte rénale est le plus souvent asymptomatique. En tomographie, on peut retrouver des lésions rénales volontiers bilatérales, avec hypodensités corticales multiples. L'histologie retrouve le plus souvent une atteinte tubulo-interstitielle avec infiltration cellulaire (plasmocytes et cellules mononucléées, polynucléaires éosinophiles) diffuse ou en motte des tubules et de l'interstitium, et une fibrose plus ou moins importante.

L'atteinte rénale n'est habituellement pas isolée et dans plus de 95 % des cas, les patients présentent des lésions extra-rénales (sialadénites/adénopathies/atteintes ophtalmologiques ou pulmonaires/pancréatiques...). L'atteinte rénale est le plus souvent concomitante et diagnostiquée en même temps que les lésions extra rénales mais elle peut survenir chez un patient connu porteur d'une maladie associée aux IgG4 et constituer un mode de rechute de la maladie. Il ne faut pas oublier dans le diagnostic différentiel, le syndrome de Gougerot Sjögren dans lequel on peut retrouver une atteinte tubulo-interstitielle et une présentation clinique initiale éventuelle avec atteinte glandulaire et présence d'anticorps anti-nucléaires [28].

5.8. Autres organes atteints

Dans les formes systémiques, 12 % des patients présentent une atteinte thoracique parenchymateuse, pleurale ou médiastinale. L'atteinte pulmonaire est le plus souvent asymptomatique, découverte par l'imagerie complémentaire (nodules, opacités en verre dépoli) même si des évolutions de pneumopathie interstitielle sévère avec fibrose

sont rapportées. Des atteintes trachéobronchiques avec sténose sont parfois notées, dans ce cas plus parlantes cliniquement également. L'atteinte pleurale se manifeste plutôt par des épaississements des séreuses, plutôt que par des épanchements. Le médiastin est surtout siège d'adénopathies, même si des fibroses médiastinales sont connues [29]. L'atteinte aortique (aortite et anévrysme inflammatoire) [30, 31] est rapportée dans 9 % des formes systémiques de la maladie, asymptomatique le plus souvent et détectée lors d'un examen radiologique. D'exceptionnelles atteintes d'autres territoires ont été rapportées avec une présentation de lésion périartérielle au niveau des carotides, des artères pulmonaires, fémorales ou poplitées.

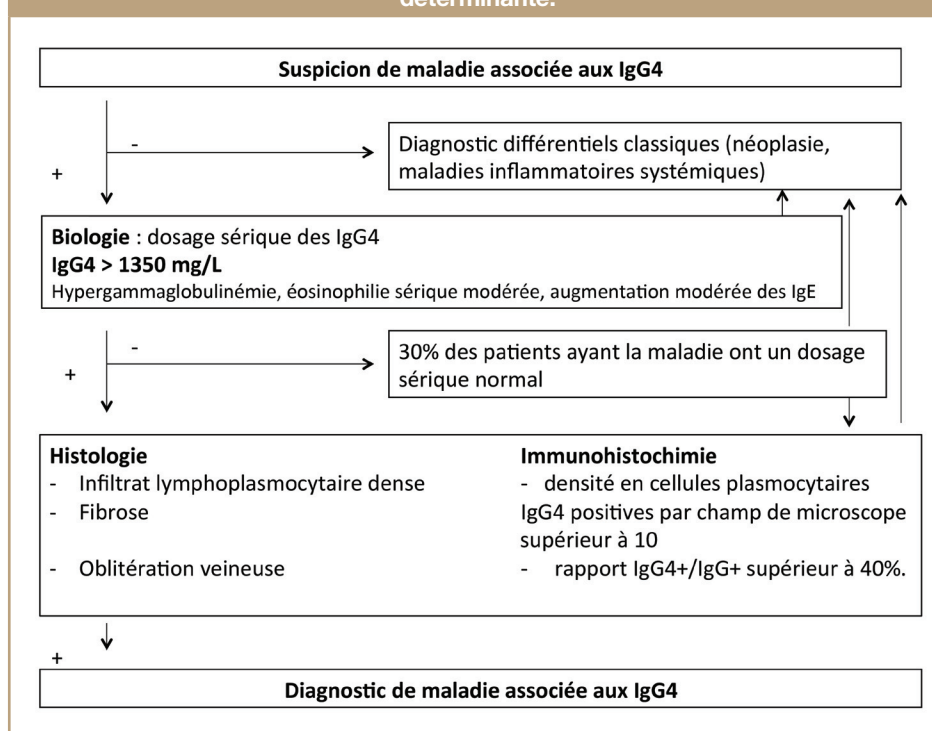
La thyroïde [32, 33], le tube digestif [34], les ganglions [35], les méninges (pachyméningite) [36] et l'hypophyse, les seins (pseudo tumeur inflammatoire, mastite) [37], la prostate [38] et la peau peuvent également être atteints au cours de la maladie associée aux IgG4. Dans toutes ces situations, le diagnostic sera facilité par l'existence concomitante d'une autre atteinte plus habituelle; l'histologie caractéristique étant parfois nécessaire, avec toutes les difficultés d'obtention dans certaines localisations.

6. Approche diagnostique

6.1. Dosage sérique des IgG4

Le diagnostic évoqué nécessite une confirmation qui dans un premier temps passe par le dosage sérique des IgG4 ([tableau II](#)). La valeur usuelle supérieure des IgG4 est de 1350 mg/L, environ 5 % de la population normale a une concentration

Tableau II – Approche diagnostique schématisée en cas de suspicion de maladie associée aux IgG4. Actuellement l'étape biologique du dosage des IgG4 reste centrale, mais dans l'avenir, l'étude des plasmablastes sera probablement déterminante.



d'IgG4 supérieur à 1350 mg/L. Toutefois si l'on prend cette valeur comme cut-off, la concentration sérique des IgG4 > 1350 mg/L a une sensibilité de 76 %, une spécificité de 93 % et une valeur prédictive positive de 36 % pour le diagnostic de pancréatite auto-immune. Si l'on augmente le cut-off à 2800 mg/L, la sensibilité est moins bonne (53 %) mais l'on gagne en spécificité (99 %) et surtout en valeur prédictive positive (75 %) [39]. L'élévation des IgG4 semble corrélée avec le nombre d'organes atteints [40].

6.2. Diagnostic anatomopathologique

L'obtention de biopsies est parfois délicate dans les organes difficiles d'accès comme le pancréas ou le rétro-péritoine par exemple. Il n'y a pas d'aspect histologique pathognomonique de la maladie associée aux IgG4 mais la mise en évidence simultanée d'un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire, d'une fibrose « storiforme » (aspect ruisselant) et d'oblitérations veineuses par l'infiltrat, est évocateur. Les anomalies histologiques peuvent être modifiées et variées selon l'anatomie de l'organe atteint et peut-être également par l'âge plus ou moins jeune des lésions.

L'infiltrat lymphoplasmocytaire contenu au sein de la fibrose est important. Il faut également noter la présence de polynucléaires éosinophiles parfois en quantité abondante. À l'opposé, il n'y a pas de polynucléaires neutrophiles et pas non plus de granulome. Cet infiltrat lymphocytaire est majoritairement constitué de lymphocytes T, souvent spécifiquement CD8 positifs. Les obstructions veineuses, sont classiques. La lumière veineuse est ainsi bordée, parfois complètement obstruée, par l'infiltrat lymphoplasmocytaire. En revanche, on ne retrouve pas de nécrose fibrinoïde, signe d'un processus vascularitique.

L'immunohistochimie avec mise en évidence qualitative et quantitative de plasmocytes IgG4 positifs, si elle reste peu spécifique, est un élément très important du diagnostic devant une présentation clinico-histologique appropriée [41], ce d'autant si l'on exige une densité en cellules plasmocytaires IgG4 positives par champ de microscope supérieur à 10 avec un rapport IgG4+/IgG+ supérieur à 40 %.

Le diagnostic histologique repose donc sur l'association de critères microscopiques positifs mais aussi négatifs et sur une immunohistochimie qualitative et quantitative évocatrice [41, 42] (*tableau III*).

Tableau III – Critères diagnostiques de la maladie associée aux IgG4, adaptés de [2].

1. Atteinte d'organe retenue soit par une dysfonction de celui-ci et/ou une anomalie radiologique-hypertrophie focale ou diffuse, lésion(s) nodulaire(s).
2. Élévation des IgG4 sériques (> 135 mg/dl)
3. Lésions histologiques
 - a. Infiltration lymphoplasmocytaires avec fibrose tissulaire sans infiltration par des polynucléaires neutrophiles
 - b. Infiltration par des plasmocytes IgG4+ (> 10 par champ à fort grossissement) et/ou un ratio IgG4+/IgG+ >40%
 - c. Fibrose engainante et mutilante
 - d. Lésions de phlébite oblitérante

Le diagnostic de maladie associée aux IgG4 est retenu avec certitude si : (1) + (2) + (3)

Le diagnostic reste probable en présence des critères (1) + (3)

6.3. Diagnostics différentiels

Compte tenu de la multiple présentation de la maladie, les diagnostics différentiels sont différents si la maladie associée aux IgG4 se présente sur une atteinte mono-organique ou systémique. De façon générale une atteinte mono-organique isolée avec un contexte d'IgG4 non connu, fera surtout discuter une pathologie tumorale carcinomateuse ou lymphomateuse (masse pancréatique/pulmonaire/hépatique/ganglionnaire/rénale). L'atteinte de la voie biliaire principale fera surtout discuter une cholangite sclérosante primitive ou un cholangiocarcinome.

Dans les présentations d'allure systémique avec atteinte d'emblée de plusieurs organes, d'autres étiologies seront évoquées. Le syndrome de Gougerot Sjogren en particulier, compte tenu de l'atteinte commune des glandes salivaires et du rein (néphropathie tubulo-interstitielle), est un diagnostic fréquemment envisagé devant une présentation d'hypertrophie des glandes sous maxillaires ou parotidiennes. La localisation orbitaire et sinusienne ou du nez et de l'oreille sont classiques dans les vascularites granulomateuses. La granulomatose avec polyangéite (maladie de Wegener) qui prend parfois un aspect tumoral (tumeur intra-orbitaire par exemple) fait partie des hypothèses qui peuvent être envisagées devant une présentation associant des masses orbitaires et périorbitaires. Le contexte est généralement plus inflammatoire que ce soit cliniquement (fièvre) et surtout biologiquement. Enfin la sarcoïdose, maladie s'il en est qui peut être très systémique, pouvant toucher les régions orbitaires, ORL, les glandes salivaires, le poumon avec une atteinte à la fois ganglionnaire et parenchymateuse, le rein... est probablement un diagnostic différentiel important, ce d'autant qu'habituellement cette maladie est plutôt dans un contexte d'apyrexie sans syndrome inflammatoire majeur. En revanche, l'histologie est fondamentalement différente, en particulier avec l'existence d'un granulome qui n'est pas retrouvé dans la maladie associée aux IgG4.

Les hémopathies évolutives (lymphomes B et T, maladie de Castleman) seront parfois évoquées initialement avant que l'histologie ne permette le diagnostic.

D'autres entités peuvent être discutées en fonction des organes atteints : histiocytose langerhansienne ou non en cas d'atteinte ganglionnaire, aortique, pulmonaire et ORL, mais là encore la cytologie et l'histologie permettent de redresser ce diagnostic.

7. Traitement

La maladie associée aux IgG4 est une maladie très sensible à la corticothérapie. Ce traitement reste donc le traitement de première intention dans cette pathologie, même si la plupart des informations retenues l'ont été à partir d'études rétrospectives en particulier dans les pancréatites auto-immunes. Même si l'histoire naturelle de la maladie associée aux IgG4, en particulier au niveau de chaque organe atteint, est mal connue, et même si des évolutions spontanément favorables sans traitement ont été rapportées, ne pas mettre en place de traitement une fois le diagnostic posé expose à laisser évoluer la maladie sur d'autres organes et surtout à laisser le ou les organes atteints se détruire par la fibrose inflammatoire.

Concernant la place des IgG4 pour assurer le suivi thérapeutique sous corticoïdes, il est difficile de se prononcer. Certes sous traitement corticostéroïde, la concentration d'IgG4 a tendance à baisser rapidement mais cette diminution n'est pas forcément le cas chez tous les patients (en moyenne 60 % seulement). La concentration d'IgG4 peut donc rester élevée chez environ 40 % des patients, malgré une évolution clinique favorable.

Par ailleurs, si certaines études montrent que la concentration des IgG4 peut aider à identifier des rechutes précoces, la relation n'est pas systématique puisque 10 % des patients qui rechutent gardent une concentration d'IgG4 normalisée après leur premier traitement. Il ne faut pas non plus oublier que ces données, encore récentes, concernent surtout les patients avec pancréatite auto-immune et qu'elles ne peuvent pas être utilisées pour les autres manifestations de maladies associées aux IgG4. Si actuellement on peut considérer logique de suivre la concentration des IgG4, sous traitement et à l'arrêt de celui-ci, surtout si ces immunoglobulines étaient élevées lors de la présentation clinique initiale, le monitoring des plasmablastes sera peut-être plus intéressant dans l'avenir [43].

Le schéma de la corticothérapie est variable selon les écoles et les auteurs japonais qui ont le plus d'expérience dans cette maladie proposent le consensus de traitement suivant : Prednisolone à la posologie de 0,6 mg/kg et par jour pour deux à quatre semaines. À l'issue de cette dose d'attaque, la posologie sera diminuée sur une période de trois à six mois jusqu'à une dose de 5 mg par jour et sera continuée entre 5 et 2,5 mg par jour pour trois ans environ [44]. Avec ce schéma thérapeutique, environ 25 % des patients présentent toutefois des reprises évolutives [45]. En cas de difficultés de gestion de la corticothérapie, et en particulier en cas de corticodépendance ou surtout en cas d'effets secondaires chez des patients déjà possiblement atteints d'ostéoporose ou de diabète, des immunosuppresseurs ou d'autres traitements peuvent être mis en place : l'Azathioprine (2 à 2,5 mg/kg et par jour) et le Mycophenolate mofetil (750 mg par jour) sont les 2 immunosuppresseurs qui ont été le plus utilisés [46]. Le Bortezomib a été également proposé ; ce cytotoxique est actif contre

les plasmocytes, en particulier du myélome, ce qui en fait un candidat potentiel compte tenu de la nature de l'infiltrat cellulaire dans cette pathologie. Toutefois même si son efficacité a été rapportée chez des patients présentant une pathologie tumorale pseudo-orbitaire ou une atteinte pulmonaire, des études supplémentaires sont nécessaires compte tenu des effets secondaires plus importants avec cette molécule [47].

Enfin le Rituximab (Ac anti-CD20) reste probablement la biothérapie la plus prometteuse dans cette pathologie [48]. Le rapport récent de son efficacité chez 10 patients en échec des thérapeutiques classiques laisse penser que son utilisation sera à discuter très rapidement chez des patients atteints d'une maladie associée aux IgG4. Après 2 perfusions de 1 gramme de Rituximab à 15 jours d'intervalle, 9 patients sur 10 ont vu leurs manifestations cliniques s'améliorer spectaculairement en 1 mois, permettant l'arrêt des corticoïdes et des immunosuppresseurs [49].

8. Conclusion

La maladie associée aux IgG4, entité décrite à partir des années 2000 chez des patients présentant un tableau de pancréatite, est actuellement rapportée comme pouvant toucher tous les organes. Elle se caractérise par l'atteinte d'un ou de plusieurs organes avec cliniquement des lésions d'allure tumorale et histologiquement un infiltrat lymphoplasmocytaire, associé à une fibrose. Dans le sang, dans près de 70 % des cas, on retrouve une augmentation de la concentration des IgG4 et les plasmablastes, précurseurs des plasmocytes sont quant à eux quasi systématiquement augmentés. Le diagnostic repose sur une analyse clinico-biologique rigoureuse et une étape histologique, fréquemment nécessaire, pour une documentation précise (infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire T, fibrose « storiforme », oblitérations veineuses et étude immunohistochimique). Le traitement repose sur une corticothérapie initiale mais impose fréquemment un recours aux immunosuppresseurs.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Guma M, Firestein GS. IgG4-related diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2012;26:425-38.
- [2] Okazaki K, Uchida K, Koyabu M, et al. Recent advances in the concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. *J Gastroenterol* 2011;46:277-88.
- [3] Stone JH, Zen Y, Vikram Deshpande V. IgG4-Related Disease. *N Engl J Med* 2012;366:539-51.
- [4] Carruthers MN, Stone JH, Khosroshahi A. The latest on IgG4-RD: a rapidly emerging disease. *Curr Opin Rheumatol* 2012;24:60-9.
- [5] Ebbo M, Daniel L, Pavic M, et al. IgG4-related systemic disease: clinical, biological, histological features and treatment response in a French cohort. Results of a Multicenter Registry. *Medicine (Baltimore)* 2012;91:49-56.
- [6] Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, et al. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin Exp Allergy* 2009;39:469-77.
- [7] Nirula A, Glaser SM, Kalled SL, et al. What is IgG4? A review of the biology of a unique immunoglobulin subtype. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:119-24.
- [8] Ebbo M, Grados A, Bernit E, et al. Pathologies associated with serum IgG4 elevation. *Int J Rheumatol* 2012; 2012: Art ID 602809:1-6.
- [9] Chang SY, Keogh KA, Lewis JE, et al. IgG4-positive plasma cells in granulomatosis with polyangiitis (Wegener's): a clinicopathologic and immunohistochemical study on 43 granulomatosis with polyangiitis and 20 control cases. *Hum Pathol* 2013; 44:2432-7.
- [10] Wallace ZS, Mattoo H, Carruthers M, et al. Plasmablasts as a biomarker for IgG4-related disease, independent of serum IgG4 concentrations. *Ann Rheum Dis* 2015;74:190-5.
- [11] Brito-Zerón P, Ramos-Casals M, Bosch X, et al. The clinical spectrum of IgG4-related disease. *Autoimmun Rev* 2014; 13:1203-10.
- [12] Khosroshahi A, Stone H. A clinical overview of IgG4-related systemic disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:57-66.
- [13] Ebbo M, Grados A, Daniel L, et al. Maladie systémique associée aux IgG4 : une pathologie émergente ? Mise au point et revue de la littérature. *Rev Med Interne* 2012;33:23-34.
- [14] Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, et al. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality. Proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995;40:1561-8.

- [15] Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001;344:732-8.
- [16] Ito N, Yagi K, Kawano M, et al. Analysis of pancreatic endocrine function in patients with IgG4-related diseases, in whom autoimmune pancreatitis was ruled out by diagnostic imaging. *Endocr J* 2014; 61:765-72.
- [17] Chari ST, Takahashi N, Levy MJ, et al. A diagnostic strategy to distinguish autoimmune pancreatitis from pancreatic cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:1097-103.
- [18] Sah RP, Chari ST, Pannala R. Differences in clinical profile and relapse rate of type 1 vs type 2 autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology* 2010;139:140-8.
- [19] Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, et al. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2010;45:249-65.
- [20] Ghazale A, Chari ST, Zhang L, et al. Immunoglobulin G4-associated cholangitis: clinical profile and response to therapy. *Gastroenterology* 2008;134:706-15.
- [21] Takuma K, Kamisawa T, Igarashi Y. Autoimmune pancreatitis and IgG4-related sclerosing cholangitis. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23:80-7.
- [22] Zen Y, Harada K, Sasaki M. IgG4-related sclerosing cholangitis with and without hepatic inflammatory pseudotumor, and sclerosing pancreatitis associated sclerosing cholangitis: do they belong to a spectrum of sclerosing pancreatitis? *Am J Surg Pathol* 2004; 28:1193-1203.
- [23] Geyer JT, Ferry JA, Harris NL, et al. Chronic sclerosing sialadenitis (Kuttner tumor) is an IgG4-associated disease. *Am J Surg Pathol* 2010;34:202-10.
- [24] Geyer JT, Deshpande V. IgG4-associated sialadenitis. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:95-101.
- [25] Zen Y, Onodera M, Inoue D, et al. Retroperitoneal fibrosis: a clinicopathologic study with respect to immunoglobulin G4. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1833-9.
- [26] Pradhana D, Pattnaik N, Russell S, et al. IgG4-related kidney disease – A review. *Pathol Res Pract* 2015;211:707-11.
- [27] Saeki T, Nishi S, Imai N, et al. Clinicopathological characteristics of patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 2010;78:1016-23.
- [28] Raissian Y, Nasr SH, Larsen CP, et al. Diagnosis of IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:1343-52.
- [29] Fei Y, Shi J, Lin W, et al. Intrathoracic Involvements of Immunoglobulin G4-Related Sclerosing Disease. *Medicine* 2015;94:e2150.
- [30] Stone JR. Aortitis, periaortitis, and retroperitoneal fibrosis, as manifestations of IgG4-related systemic disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:88-94.
- [31] Kasashima S, Zen Y. IgG4-related inflammatory abdominal aortic aneurysm. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:18-23.
- [32] Dahlgren M, Khosroshahi A, Nielsen GP, et al. Riedel's thyroiditis and multifocal fibrosclerosis are part of the IgG4-related systemic disease spectrum. *Arthritis Care Res* 2010; 62:1312-8.
- [33] Li Y, Nishihara E, Kakudo K. Hashimoto's thyroiditis: old concepts and new insights. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:102-7.
- [34] Koizumi S, Kamisawa T, Kuruma S, et al. Immunoglobulin G4-related gastrointestinal diseases, are they immunoglobulin G4-related diseases? *World J Gastroenterol*. 2013;19(35):5769-74.
- [35] Sato Y, Notohara K, Kojima M, et al. IgG4-related disease: historical overview and pathology of hematological disorders. *Pathol Int* 2010;60:247-58.
- [36] Chan SK, Cheuk W, Chan KT, et al. IgG4-related sclerosing pachymeningitis: a previously unrecognized form of central nervous system involvement in IgG4-related sclerosing disease. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1249-52.
- [37] Cheuk W, Chan AC, Lam WL. IgG4-related sclerosing mastitis: description of a new member of the IgG4-related sclerosing diseases. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:1058-64.
- [38] Uehara T, Hamano H, Kawakami M. Autoimmune pancreatitis-associated prostatitis: distinct clinicopathological entity. *Pathol Int* 2008; 58:118-25.
- [39] Sah RP, Chari ST. Serologic issues in IgG4-related systemic disease and autoimmune pancreatitis. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:108-13.
- [40] Lin W, Lu S, Chen H, et al. Clinical characteristics of immunoglobulin G4-related disease: a prospective study of 118 Chinese patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54:1982-90.
- [41] Smyrk TC. Pathological features of IgG4-related sclerosing disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:74-9.
- [42] Deshpande V, Zen Y, Chan JKC, et al. Consensus statement on the pathology of IgG4 related disease. *Mod Pathol* 2012;25:1181-92.
- [43] Zen Y, Nakanuma Y. Pathogenesis of IgG4-related disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23:114-8.
- [44] Morselli-Labate AM, Pezzilli R. Usefulness of serum IgG4 in the diagnosis and follow-up of autoimmune pancreatitis: a systematic literature review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24:15-36.
- [45] Hermet M, Kémény JL, Guettrot-Imbert G, et al. Maladie fibrosclérotisante à IgG4. *Presse Med* 2012; 41: 682-94.
- [46] Khosroshahi A, Stone JH. Treatment approaches to IgG4-related systemic disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23:67-71.
- [47] Khan ML, Colby TV, Viggiano RW, et al. Treatment with bortezomib of a patient having hyper IgG4 disease. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010;10:217-9.
- [48] Khosroshahi A, Bloch DB, Deshpande V, et al. Rituximab therapy leads to rapid decline of serum IgG4 levels and prompt clinical improvement in IgG4-related systemic disease. *Arthritis Rheum* 2010;62:1755-62.
- [49] Khosroshahi A, Carruthers MN, Deshpande V, et al. Rituximab for the treatment of IgG4-related disease: lessons from 10 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 2012;91:57-66.

QCM Évaluez-vous !

*Ceci est un questionnaire à choix multiples.
Par conséquent, il est possible que certaines questions
puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.
Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.*

1 Les immunoglobulines G4 (IgG4):

- ☐ A. représentent moins de 5 % du total des immunoglobulines G
- ☐ B. ont une concentration extrêmement variable d'un individu à l'autre
- ☐ C. sont capables d'activer le complément par la voie classique
- ☐ D. ont physiologiquement une fonction anti-inflammatoire
- ☐ E. ont une valeur normale comprise entre 10 et 1350 mg/L

2 Les plasmablastes:

- ☐ A. sont des précurseurs des lymphocytes B
- ☐ B. appartiennent à la lignée lymphocytaire B et sont caractérisés par un phénotype particulier
- ☐ C. sont présents chez le sujet sain, dans le sang, en faible quantité
- ☐ D. sont des cellules utiles pour le diagnostic initial et pour le suivi thérapeutique dans la maladie associée aux IgG4
- ☐ E. sont des biomarqueurs très sensibles de la maladie associée aux IgG4

3 La maladie associée aux IgG4:

- ☐ A. est facile à diagnostiquer cliniquement car la présentation est très stéréotypée
- ☐ B. ne touche que très rarement le pancréas
- ☐ C. justifie une fois évoquée un dosage sérique des IgG4
- ☐ D. à le plus souvent une présentation pseudo-tumorale ou tumorale
- ☐ E. justifie très souvent d'une biopsie pour analyse anatomopathologique

4 La maladie associée aux IgG4:

- ☐ A. est facilement reconnue en microscopie optique car la présence de lymphoplasmocytes est suffisante au diagnostic
- ☐ B. se caractérise par une fibro-inflammation qui aboutira tôt ou tard à une destruction de l'organe atteint
- ☐ C. justifie d'un traitement par corticoïde une fois le diagnostic posé
- ☐ D. ne rechute jamais
- ☐ E. le Rituximab est un traitement possible de cette maladie

5 Généralités sur les MICI et anticorps anti-glycans:

- ☐ A. la MC a préférentiellement un profil d'orientation Th2 et la RCH a préférentiellement un profil d'orientation Th1.
- ☐ B. l'analyse histologique de biopsies intestinales n'est pas nécessaire au diagnostic de MICI.
- ☐ C. l'association du dosage ANCA/ASCA est utilisée en routine pour l'aide au diagnostic des MICI.
- ☐ D. les anticorps anti-glycans ont une prévalence supérieure à 90 % dans les MICI.
- ☐ E. une concentration élevée d'anticorps anti-glycans et une présence de plusieurs anticorps anti-glycans peuvent se retrouver dans les MICI compliquées.

6 Les anticorps anti-GP2 et anti-GM-CSF

- ☐ A. la prévalence des anticorps anti-GP2 est globalement plus élevée dans la MC que dans la RCH
- ☐ B. les anticorps anti-GP2 d'isotype IgA peuvent être présents dans la maladie cœliaque.
- ☐ C. les anticorps anti-GM-CSF peuvent se doser uniquement sur prélèvement sanguin.
- ☐ D. une concentration d'anticorps anti-GM-CSF $\geq 1,6 \mu\text{g/mL}$ est en faveur d'un risque augmenté de complications ou de chirurgie des MICI.
- ☐ E. on retrouve des concentrations équivalentes d'anti-GM-CSF dans les MC actives vs les MC en rémission

7 La calprotectine fécale (CF)

- ☐ A. la CF peut être augmentée dans les MICI et dans les cancers colorectaux.
- ☐ B. la CF est corrélée à l'activité des MICI (score endoscopique) ainsi qu'à la cicatrisation de la muqueuse.
- ☐ C. la CF a une concentration stable durant la vie.
- ☐ D. la CF semble être un bon marqueur de suivi d'activité des patients atteints MICI traités par biothérapie: sa normalisation est en faveur d'une rémission
- ☐ E. Une CRP normale ($< 5 \text{ mg/L}$) de patients atteints de MC et traités par IFX est associée à une réponse thérapeutique durable.

8 Biothérapies et MIC

- ☐ A. l'adalimumab est un anticorps chimérique.
- ☐ B. en cas de fuite médicamenteuse au niveau intestinal on retrouve des concentrations basses d'anti-TNF dans le sang et élevée dans les selles.
- ☐ C. le seuil thérapeutique d'infliximab semble situer au-dessus de 2 µg/mL
- ☐ D. une fois les biothérapies introduites, le patient atteint de MICI recevra ce traitement à vie.
- ☐ E. l'adaptation thérapeutique de l'infliximab peut s'effectuer en hôpital de jour ou en consultation grâce à des dosages minute capillaires.

9 Les immunoglobulines G (IgG) sont utilisées:

- ☐ A. dans les agammaglobulinémies
- ☐ B. dans les déficits immunitaires communs variables
- ☐ C. dans les déficits en IgA
- ☐ D. dans les déficits en complément
- ☐ E. dans la maladie de Kawasaki

10 Les immunoglobulines G (IgG) sous cutanées:

- ☐ A. ne s'utilisent préférentiellement qu'à l'hôpital
- ☐ B. donnent des réactions anaphylactiques plus fréquentes que la voie intraveineuse
- ☐ C. sont souvent utilisés chez l'enfant
- ☐ D. sont injectées habituellement une fois par semaine
- ☐ E. peuvent être injectées rapidement.

11 Le microbiote chez le nouveau-né:

- ☐ A. les muqueuses sont vides de germes à la naissance
- ☐ B. La colonisation de l'intestin se fait à partir du 5^e jour de vie
- ☐ C. Le sevrage joue un rôle important pour les espèces composant la flore
- ☐ D. Les premières espèces à coloniser l'intestin sont essentiellement des espèces anaérobies strictes
- ☐ E. une fois la flore définitive installée, elle est peu variable tout au long de la vie chez un même individu

12 Le microbiote et l'adulte:

- ☐ A. Notre organisme contient plus de flore commensale que de cellules humaines
- ☐ B. La flore intestinale est composée essentiellement d'espèces de 4 phyla: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Actinobacteria*

- ☐ C. La composition de la flore est identique entre les individus d'une même espèce
- ☐ D. Dans les conditions physiologiques, la flore est stable chez un même individu
- ☐ E. Il peut y avoir des variations de flore chez les personnes âgées

13 Le microbiote et la réponse immunitaire muqueuse:

- ☐ A. Le microbiote joue un rôle prépondérant dans le développement du système immunitaire muqueux
- ☐ B. Le système immunitaire des muqueuses joue un rôle essentiel dans le maintien de la flore commensale
- ☐ C. Les réponses muqueuses sont plutôt inflammatoires
- ☐ D. les IgA sécrétoires activent le Complément, donc favorisent les réponses inflammatoires
- ☐ E. La cytokine des muqueuses est le TGF-β, elle favorise des réponses tolérantes et la synthèse d'IgA

14 Réponses immunitaires dans les muqueuses:

- ☐ A. Les réponses immunitaires dirigées contre les germes pathogènes sont inflammatoires
- ☐ B. Les réponses inflammatoires muqueuses sont toujours pathologiques
- ☐ C. Les cellules épithéliales ont un rôle essentiel dans la reconnaissance des germes pathogènes
- ☐ D. La différenciation entre germes commensaux et germes pathogènes est liée à des facteurs de virulence et à un contexte de reconnaissance
- ☐ E. L'homéostasie correspond à l'état physiologique dans les muqueuses

15 Le microbiote pulmonaire est:

- ☐ A. une vue de l'esprit
- ☐ B. proche de celui du nez
- ☐ C. proche de celui de l'oropharynx
- ☐ D. proche de celui de l'air ambiant
- ☐ E. difficile à étudier

16 Dans la mucoviscidose, le microbiote pulmonaire est:

- ☐ A. d'abondance accrue
- ☐ B. d'abondance diminuée
- ☐ C. de diversité accrue
- ☐ D. de diversité diminuée
- ☐ E. semblable à celui d'un sujet fumeur

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 84

Un cas clinique de maladie à IgG4

Colette Chapuis Cellier^a, Christine Lombard^a

1. Observation

M. B. M. 80 ans, atteint d'un diabète de type II depuis 2 ans est hospitalisé en raison de la découverte fortuite d'une insuffisance rénale chronique de stade V (créatinémie à 400 mmol/L, DFG à 14 mL/min/1,73m²). À l'interrogatoire on relève l'apparition depuis 1 mois d'une asthénie sans anorexie ni amaigrissement.

Les examens biochimiques (**tableau I**) et hématologiques réalisés en début d'hospitalisation confirment la maladie rénale chronique, objectivent ses complications (anémie, hyperuricémie et hyperparathyroïdie secondaire) et révèlent les stigmates biologiques du diabète de type II. Ils mettent également en évidence une protéinurie modérée de type tubulaire (**figure 1**) et une légère hématurie glomérulaire à 16 éléments/mm³.

Le bilan auto-immun n'est pas contributif. En revanche l'électrophorèse des protéines sériques objective un aspect très caractéristique de la fraction gamma (**figure 2**) qui conduit à un dosage des sous-classes IgG à la recherche d'une élévation des IgG4 (**tableau II**).

Retrouvée à plus de 8 fois la limite supérieure haute, l'élévation polyclonale des IgG4 (**tableau II, figures 3 et 4**) va orienter la suite des examens à la recherche d'une maladie rénale à IgG4 (*IgG4-related kidney disease*) [1]. Les résultats des examens anatomopathologique et histopathologique et ceux issus des techniques d'immunomarquage pour les IgG4 réalisés sur le fragment rénal obtenu par biopsie à l'aiguille confirment la maladie rénale à IgG4 en précisant son type : néphropathie tubulo-interstitielle chronique à IgG4 (**tableau III**). Le bilan est complété notamment par le dosage des IgE et des protéines du système du complément (**tableau II**), par une imagerie (scanner thoraco-pelvien, IRM pelvienne) à la recherche (négative) d'une autre localisation de la maladie.

2. Discussion

D'individualisation récente la maladie à IgG4 se caractérise par une atteinte de type inflammatoire d'un ou plusieurs organes et/ou tissus qui, infiltrés par des plasmocytes producteurs d'IgG4 deviennent le siège de processus fibrogènes dont les expressions cliniques sont multiples [2]. Comme de

^a Laboratoire d'immunologie

Centre de Biologie Sud, CHU de Lyon
Centre Hospitalier Lyon Sud
69495 Pierre Bénite

Correspondance

colette.cellier@chu-lyon.fr

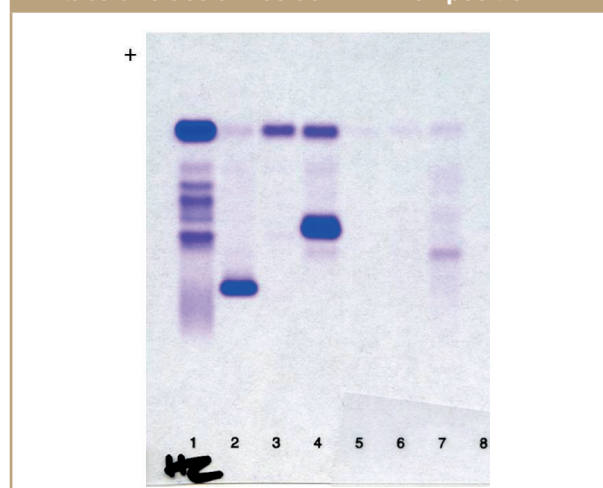
article reçu le 4 avril 2016, accepté le 15 avril 2016

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Tableau I – Examens biochimiques.

	Concentration	Unités	Valeurs usuelles
Sodium	136	mmol/L	136-145
Potassium	4,7	mmol/L	3,5-5,1
Chlore	104	mmol/L	98-107
Bicarbonates	23	mmol/L	21-32
Urée	22,4	mmol/L	2,5-6,4
Créatinine	486	μmol/L	59-104
DFG estimé par CKD-EPI	9	mL/min/1,74 m ²	> 90
Glucose	8,9	mmol/mol	4,1-5,8
Calcium	2,14	mmol/mol	2,12-2,52
Phosphore	1,55	mmol/mol	0,81-1,58
Hb glyquée	7,1	%	4-6
Hb glyquée	54	mmol/mol	20-42
Parathormone	195	ng/l	15-65
vit D	24	nmol/L	> 50
Acide urique	445	μmol/L	208-428
Protéinurie	0,2	g/L	< 0,1
Protéinurie/24 h	0,5	g/24H	< 0,30

Figure 1 – Profil électrophorétique de type tubulaire des urines de Mr BM en position 7.



nombreux organes, le parenchyme rénal peut être le siège de cette fibrose particulière qui va aboutir à l'apparition d'une néphrite tubulo-interstitielle à IgG4 (IgG4-TIN), manifestation clinique la plus fréquente de la maladie rénale à IgG4 [3]. Un des signes biologiques caractéristiques de l'IgG4-TIN, réside dans la présence d'une hyper-IgG de 50 g/L en moyenne, celle-ci résultant d'une concentration sérique

Tableau II – Examens immunologiques

	Concentration	Unités	Valeurs usuelles
IgG	18,3	g/L	7,00-16,00
IgA	1,6	g/L	1,08-3,44
IgM	0,42	g/L	0,40-2,30
CLL-κ	252	mg/L	3,3-19,4
CLL-λ	55,3	mg/L	5,71-26,3
R κ/λ	4,56		0,26-1,65
IgG1	7,83	g/L	3,82-9,29
IgG2	5,82	g/L	2,42-7
IgG3	1,3	g/L	0,218-1,76
IgG4	6,98		0,039-0,864
IgE	270	KU/L	< 150
C3	0,82	g/L	0,9-1,7
C4	0,2	g/L	0,14-0,32
CH50	46	U/mL	41-95

Tableau III – Anatomopathologie, histopathologie et immunomarquage

Examen anatomo et histopathologique : ponction biopsie rénale

Absence de lésions glomérulaires

Tubulite diffuse avec atrophie et involution de plus de 50 % des tubules

Inflammation du tissu interstitiel et fibrose storiforme de plus de 50 % de cet interstitium

Infiltration diffuse de l'interstitium par de très nombreux plasmocytes

En immunofluorescence et sur 3 glomérules absence de positivité pour les IgG, IgA, IgM, fibrinogène, C3, CLL-κ et λ

Conclusion : néphropathie interstitielle chronique évoluée

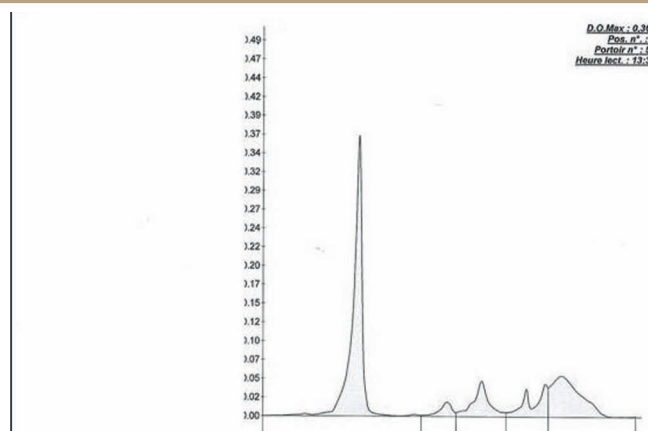
Immunomarquage pour les IgG4 : ponction biopsie rénale

Infiltration de l'interstitium rénal par un nombre de plasmocytes à IgG4 > 10 au fort grossissement

Infiltration de l'interstitium rénal par de nombreux plasmocytes avec un rapport plasmocytes à IgG4/plasmocytes à IgG > 40 %

Conclusion : néphropathie interstitielle chronique à IgG4

Figure 2 – Aspect électrophorétique de l'hypergammaglobulinémie par hyper-IgG4 polyclonale de M. BM.



Protéines totales : **75** g/l Rapp. A/G : **1,03**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	50,7	< 55,8 - 66,1	38,0	40,2 - 47,6
Alpha 1	3,5	2,9 - 4,9	2,6	2,1 - 3,5
Alpha 2	11,1	7,1 - 11,8	8,3	5,1 - 8,5
Beta	10,7	8,4 - 13,1	8,0	6,0 - 9,4
Gamma	24,0	> 11,1 - 18,8	18,0	8,0 - 13,5

Figure 3 – Immunotypage par immunodépensement du sérum de Mr BM confirmant la polyclonalité des IgG.

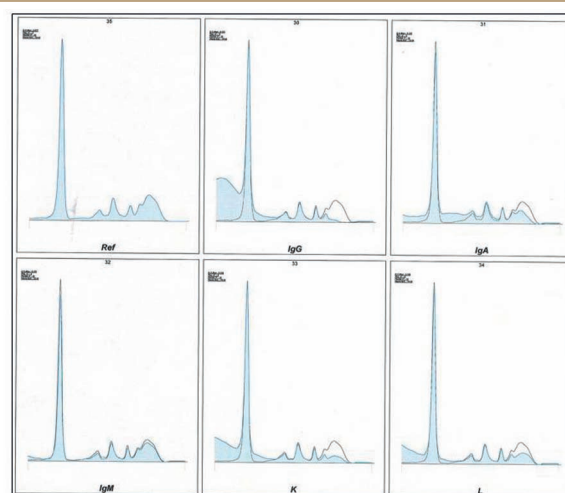


Figure 4 – Electrophorèse-Immunofixation du sérum de Mr BM confirmant la polyclonalité des IgG.

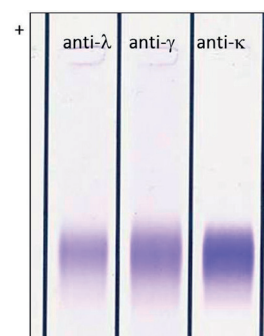


Figure 5 – Aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie à IgG polyclonales.

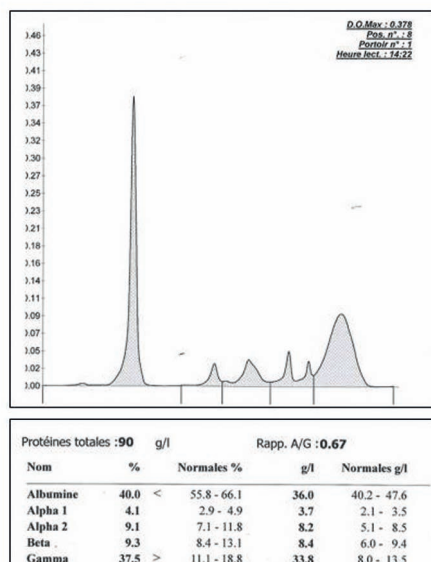


Figure 6 – Aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie à IgG4 chez un patient atteint d'une maladie à IgG4 de localisation hépatique et ganglionnaire: IgG: 43,1 g/L; IgA: 1,07 g/L; IgM: < 0,17 g/L; IgG1: 6,44 g/L; IgG2: 6,23 g/L; IgG3: 1,01 g/L; IgG4: 43,4 g/L.

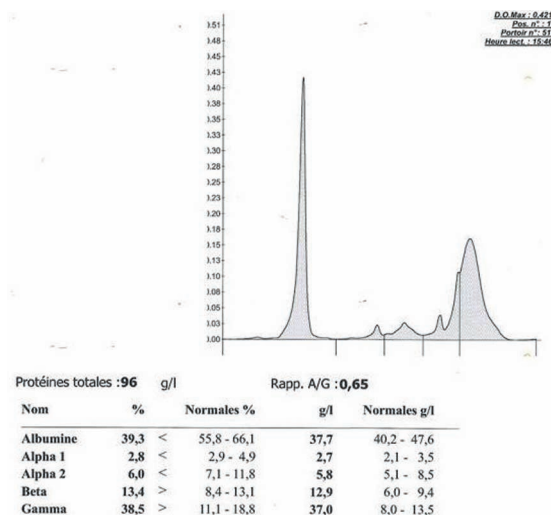


Figure 7 – Aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie à IgG4 chez un patient de 73 ans atteint d'une pancréatite auto-immune dont le diagnostic de pancréatite à IgG4 n'a été porté que 7 ans plus tard, l'élévation des IgG4 n'ayant à l'époque pas été prise en compte.

IgG: 68,7 g/L; IgA: 1,12 g/L; IgM: 0,81 g/L; IgG1: 34,4 g/L; IgG2: 46,6 g/L; IgG3: 2,75 g/L; IgG4: 41,4 g/L; CLL-κ: 316 mg/L; CLL-λ: 198 mg/L.

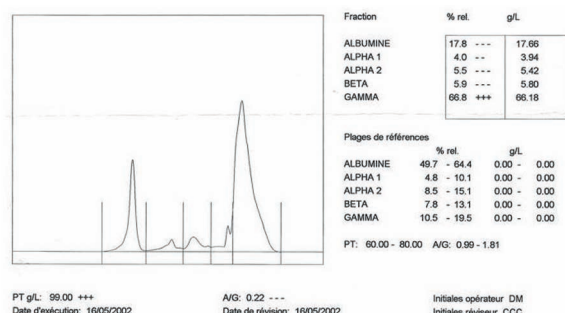


Figure 8 – Aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie à IgG4 chez un patient de 56 ans atteint d'hyperéosinophilie idiopathique

IgG: 13,1 g/L; IgA: 2,04 g/L; IgM: 0,38 g/L; IgG1: 4,75 g/L; IgG2: 5,68 g/L; IgG3: 0,74 g/L; IgG4: 4,31 g/L.

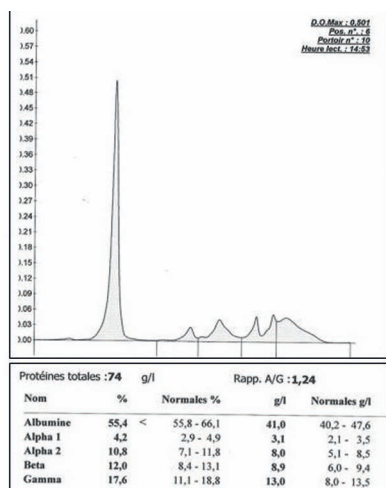
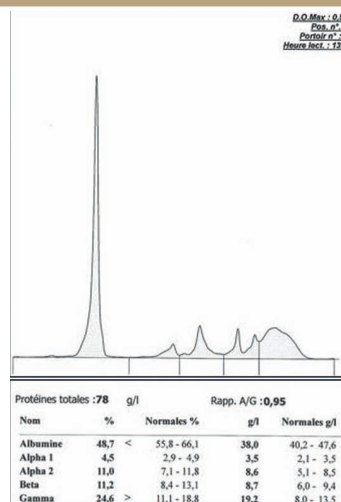


Figure 9 – Aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie à IgG4 chez un patient de 25 ans atteint d'une mucoviscidose

IgG: 18,8 g/L; IgA: 1,61 g/L; IgM: 0,86 g/L; IgG1: 9,42 g/L; IgG2: 8,32 g/L; IgG3: 1,14 g/L; IgG4: 5,34 g/L.



moyenne en IgG4 de 15 g/L, soit une élévation de plus de 20 fois la limite haute de l'intervalle des valeurs usuelles [3]. Cette hyper-IgG par hyper-IgG4 est à l'origine d'une hypergammaglobulinémie électrophorétique dont l'aspect très particulier peut parfois être pris à tort pour celui d'une gammopathie monoclonale (*figures 6 et 7*). En effet le point isoélectrique relativement acide des IgG4, comparative-ment à l'ensemble des autres membres des sous-classes IgG, les amène à migrer en gamma rapide à l'électrophorèse. La *figure 5* permet de comparer l'aspect électrophorétique d'une hypergammaglobulinémie polyclonale banale à IgG aux aspects observés au cours d'une hypergammaglobulinémie à IgG4 et/ou à une hyper IgG4 sans hypergammaglobulinémie. L'immunotypage et l'électrophorèse - immunofixation réalisés à partir du sérum du patient et représentés en *figures 3 et 4* montrent effectivement que cet aspect particulier de la fraction gamma (*figure 1*) ne relève pas d'une production clonale. Dans le cas que nous rapportons ici, l'élévation très significative du rapport CLL- κ /CLL- λ (*tableau II*) aurait pu renforcer la suspicion de monoclonalité de ces IgG de mobilité restreinte.

Les *figures 2, 6, 7, 8 et 9* montrent les différents aspects que peut prendre une élévation polyclonale des IgG4. Certaines élévations s'accompagnent d'une hypergammaglobulinémie résultant de la concentration élevée en IgG4 (*figures 2, 6, 7 et 9*) alors que d'autres apparaissent sans retentissement sur la concentration en IgG mesurée par immunonéphélométrie/turbidimétrie (*figure 8*).

Il est à noter que la concentration immunologique des IgG est sous-estimée dans les cas avérés d'hyper-IgG4, les antisérums anti-gamma réagissant essentiellement avec les IgG1 : il peut donc exister une différence significative entre la concentration des IgG mesurée par immunonéphélométrie/turbidimétrie et la somme des concentrations de chaque sous-classe.

Cependant, toute élévation polyclonale des IgG4 n'implique pas nécessairement qu'il existe une pathologie à IgG4 sous-jacente. En effet on retrouve chez certains adultes atteints de mucoviscidose une élévation polyclonale des IgG4 et le profil électrophorétique caractéristique (*figure 9*), cette élévation étant sans lien avec une infiltration des tissus pancréatiques, hépatiques ou pulmonaires par des plasmocytes à IgG4 [4]. Par ailleurs, chez 5 % des individus issus de la population normale et chez 10 % des patients atteints d'un cancer du pancréas on retrouve une concentration en IgG4 > 1,35 g/L [1].

Comme c'est le cas dans l'observation rapportée, la maladie rénale à IgG4 se présente le plus souvent sous la forme d'une tubulo-néphrite interstitielle survenant chez un sujet

âgé de sexe masculin, le mode d'entrée dans la maladie pouvant se faire de façon aiguë ou progressive [5]. Outre l'hypergammaglobulinémie précédemment mentionnée, on observe une hypocomplémentémie avec diminution du C3 ou du C4 ou des deux et une élévation des IgE sériques. Dans le cas présenté ici, cette hypocomplémentémie ne concerne que le C3 qui est très modérément abaissé et l'hyper-IgE, présente, est modérée (*tableau II*). Dans quelques 30 % des cas la recherche d'ANCA (anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires) est positive de même que dans 40 % des cas environ une hyperéosinophilie sérique est notée [1], ce qui n'est pas le cas dans cette observation.

La Société Japonaise de Néphrologie insiste sur les critères histologiques diagnostiques d'une maladie rénale à IgG4 et en particulier sur le diagnostic histologique positif d'une IgG4-TIN [6]. Celui-ci repose obligatoirement sur la présence, au fort grossissement et au sein d'une zone de dense infiltration lymphoplasmocytaire, de plus de 10 plasmocytes à IgG4, sur un rapport plasmocytes à IgG4/plasmocytes à IgG > 40 % et sur l'existence d'une fibrose localisée autour des nids lymphoplasmocytaires, fibrose, souvent qualifiée de « storiforme », c'est-à-dire en rayon de roues ou ruisselante. Comme le montre le *tableau III* tous ces critères histologiques sont présents dans l'observation rapportée.

3. Conclusion

Quelles que soient les manifestations cliniques d'une maladie à IgG4 cette pathologie multiforme reste encore de nos jours sous-diagnostiquée ou faussement diagnostiquée. Une élévation de concentration sérique des IgG4 et une augmentation tissulaire du nombre de plasmocytes à IgG4 ne suffisent en effet pas à affirmer la maladie à IgG4. Seule l'histopathologie, malgré ses difficultés techniques, représente la clé de voûte du diagnostic positif d'une maladie à IgG4 [7]. Celui-ci une fois posé, le patient pourra être traité par les corticoïdes et en cas d'inefficacité le relais pourra être pris par le rituximab. Cette observation illustre également la place que peut occuper l'électrophorèse des protéines sériques, examen au demeurant banal, largement répandu et peu coûteux, dans la mise en évidence d'une élévation polyclonale des IgG4. Dans notre expérience il est souvent apparu une réorientation diagnostique à la suite de l'interprétation faite d'un profil électrophorétique avec une élévation polyclonale des IgG4 comparable à celle des protéinogrammes représentés ici.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Pradham D, Pattnaik N, Silowash R, et al. IgG4-related kidney disease- A review. *Path Res Pract* 2015;211:707-11
- [2] Masaki Y, Dong L, Kurose N, et al. Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome: analysis of 64 cases of IgG4-related disorders. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1310-5
- [3] Saeki T, Nishi S, Imai N, et al. Clinicopathological characteristics of patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 2010;78:1016-23

- [4] Clerc A, Durupt S, Nove-Josserand R, et al. Signification de l'élévation des IgG4 dans la mucoviscidose à l'âge adulte : une étude de cohorte de 165 patients : *Rev Med Int* 2014; 35S:A165-166.
- [5] Raissian Y, Nasr SH, Larsen CP et al. Diagnosis of IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:1343-52.
- [6] Kawano M, Saeki T, Nakashima H, et al. Proposal for diagnostic criteria for IgG4-related kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2011;15:615-26.
- [7] Deshpande V, Khosroshahi A. Diagnostic guidelines for IgG4-related disease with a focus on histopathological criteria. *Diagnostic histopathology* 2013;19:119-27.

DESRIPTIF

Un patient de 50 ans, originaire du sud de la France, consulte pour un nodule cutané, ferme et indolore, sans altération cutanée, au niveau de l'ombilic, apparu depuis quelques semaines. Il n'a aucun antécédent particulier et son bilan biologique (hémogramme, CRP, bilan hépatique) est normal. Cette tuméfaction évoque un kyste d'apparence bénigne, selon le dermatologue. Cependant, le patient souhaitant son exérèse, la pièce est apportée au laboratoire. L'examen de la coupe au faible grossissement (**figure 1**), puis à des grossissements plus forts (**figures 2 et 3**) permet de poser un diagnostic.

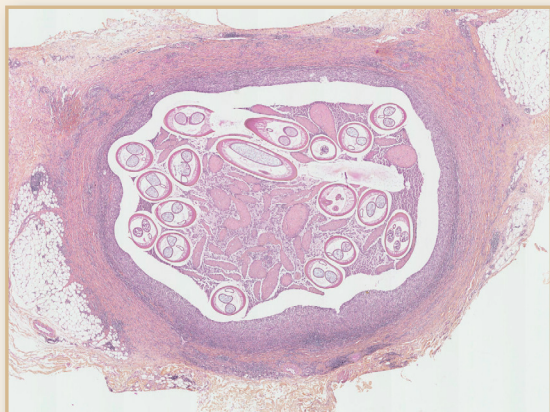


Figure 1. coupe de nodule cutané (gr x 40).

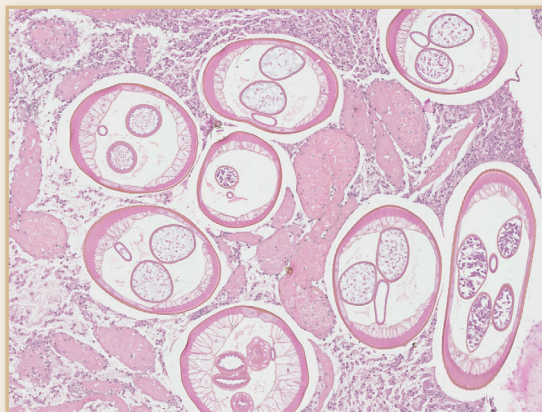


Figure 2. coupe de nodule cutané (gr x 100).

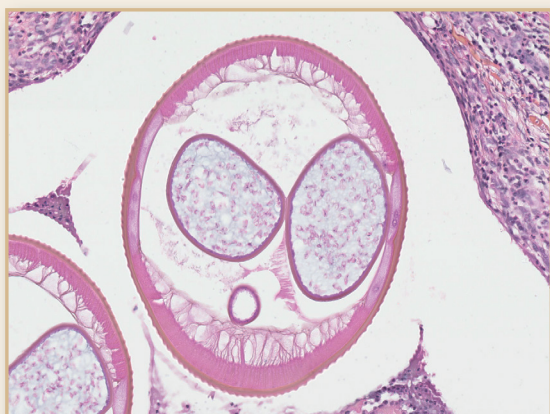


Figure 3.
coupe de nodule
(gr x 400).

QUESTIONS

1. Quel diagnostic doit-on évoquer devant ces lames ?
2. Comment le patient s'est-il infesté
3. Comment établir un diagnostic ?
4. Quelle est la conduite à tenir devant cette pathologie ?

RÉPONSES AU VERSO



a Laboratoire de Parasitologie
Hôpital Cochin
27 rue du fg St Jacques
75014 Paris
b Laboratoire d'anatomo-pathologie
Hôpital Cochin

Correspondance
patrice.bouree@aphp.fr

Patrice Bourée^a, Françoise Plantier^b

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

RÉPONSES

- R1** Les coupes de ce nodule sous-cutané évoquent une filaire animale, type *Dirofilaria*, ayant infesté l'homme. Il existe 27 espèces de *Dirofilaria*, mais seulement 7 sont retrouvées chez l'homme, dont surtout deux [1]. Il s'agit essentiellement de *Dirofilaria immitis*, qui provoque des troubles profonds et de *Dirofilaria repens*, qui se manifeste par des troubles sous-cutanés, ce qui correspond à ce cas, ou oculaire. Les femelles sont plus grosses que les mâles [2], expliquant les tailles variables observées sur la coupe du nodule (**figure 1**).
- R2** *Dirofilaria immitis* est une filaire cosmopolite, dont les vers adultes sont localisés dans le cœur et les artères pulmonaires du chien et les embryons, ou microfilaries, se trouvent dans la circulation sanguine. La transmission s'effectue par la piqûre d'un moustique. Chez le chien, l'infestation se manifeste par une toux, une dyspnée et parfois des épisodes de syncope. En cas d'infestation importante, peut survenir une insuffisance cardiaque d'évolution fatale. Chez l'homme, l'infestation est rare et ne provoque que quelques douleurs pulmonaires, avec parfois une toux et des hémoptysies. Le plus souvent, l'infestation est asymptomatique et n'est découverte que fortuitement lors d'une biopsie pour diagnostiquer une autre pathologie.
- Dirofilaria repens* (ex-*Dirofilaria nochiella*) est cosmopolite [3] mais surtout présente sur le pourtour méditerranéen [4, 5]. C'est une filaire sous-cutanée du chien et de divers mammifères. Les microfilaries sont transmises par la piqûre de moustiques. Chez l'homme, les microfilaries évoluent vers le stade adulte, sans maturation sexuelle, n'émettant donc pas de microfilaries, ou de façon exceptionnelle [6]. Les parasites forment en quelques mois des nodules indolores sous-cutanés et plus rarement dans le poumon [7]. Un cas a été rapporté d'infestation par *D. repens* ayant simulé une *larva migrans* cutanée [8].
- R3** Le parasite étant entouré d'une réaction locale fibro-inflammatoire, il n'y a, habituellement, aucune modification biologique. Le diagnostic est donc établi sur l'examen anatomo-pathologique de la pièce d'exérèse. *D. repens* mesure de 300 à 600 microns de diamètre, avec une structure musculaire bien développée et une cuticule épaisse et festonnée bien visible sur la **figure 3**. *D. immitis* est plus petite, avec une cuticule lisse. Parfois, le nématode peut être extrait en entier du nodule et être identifié [9]. En cas de doute, la PCR peut apporter la solution [10].
- R4** Outre l'exérèse chirurgicale, aucun traitement particulier n'est nécessaire, les antihelminthiques étant inefficaces. Il n'y a pas de prophylaxie particulière, en dehors de la protection contre les moustiques.

Références

- [1] Basset D, Sauguet P. *Dirofilaria* et dirofilarioses. Rev Fr Lab 2016; 483 : 39-46
- [2] Ben Hassouna J, Jbir I, Mezghani B et coll. Dirofilariose mammaire : à propos de deux nouveaux cas en Tunisie. Med Santé Trop 2015; 25:327-30
- [3] Pampiglione S, Rivasi F. Human dirofilariosis due to *Dirofilaria (Nochiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. Parassitologia, 2000, 42: 231-54
- [4] Marty P. Human dirofilariosis due to *Dirofilaria repens* in France. A review of reported cases. Parassitologia, 1997, 39: 383-6.
- [5] Muro A, Genchi C, Cordero M et al. Human dirofilariosis in the European Union, Parasit Today, 1999, 15::386-9
- [6] Nozais JP, Bain O, Gentilini M- Un cas de dirofilariose sous-cutanée à *Dirofilaria (Nochiella) repens* avec microfilariémie en provenance de Corse. Bull Soc Pathol Exot, 1994, 87:183-5
- [7] Benzaquen M, Brajon D, Delord M et al. Cutaneous and pulmonary dirofilariosis due to *Dirofilaria repens*. Br J Derm 2015; 173: 788-91
- [8] Antolová D, Miterpáková M, Paralíková Z. Case of human *Dirofilaria repens* infection manifested by cutaneous larva migrans syndrome. Parasitol Res. 2015;114: 2969-73
- [9] Kombade SP, Mantri RS, Ambhore NA, Karyakarte RP. Subcutaneous human dirofilariosis in Vidarbha. Ind Jour Pathol Microbiol 2015; 58: 387-8
- [10] Moodley K, Govind CN, Peer AKC. First detection of human dirofilariosis in South Africa. Infect Dis Rep 2015; 7.5726: 7-8

DROIT DES SOCIÉTÉS

Reddition des comptes 2015 des sociétés civiles

L'actualité juridique était la préparation des AGO annuelles d'approbation des comptes des SELARL pour le précédent numéro de RFL, et le présent opusculé devant faire une place à la reddition des comptes des sociétés civiles, l'étude sur l'ordonnance réformant le droit des contrats est reportée au prochain numéro de RFL.

La consultation annuelle des associés de sociétés civiles est peu encadrée. La seule obligation du gérant est de rendre compte, au moins une fois par an, de sa gestion aux associés.

En l'absence de disposition légale particulière, il faut se reporter aux statuts pour les modalités selon lesquelles cette reddition de comptes est faite : mode de consultation (assemblée, consultation écrite ou décisions unanimes exprimées dans un acte), convocation des associés, majorité, etc.

Nous n'examinerons que les sociétés civiles de droit commun, sociétés ayant ou non un commissaire aux comptes, société établissant ou non des documents de gestion prévisionnelle, etc. étant précisé que les obligations mises à la charge des sociétés civiles diffèrent en fonction de leur importance et du fait qu'elles ont ou non une activité économique.

Les règles spécifiques aux formes particulières de sociétés civiles (sociétés civiles de participation immobilière, sociétés civiles professionnelles, etc.) ne sont pas étudiées.

Dans le cadre de cette rubrique, l'examen ne peut qu'être succinct. Nous vous conseillons donc de vous rapprocher de votre expert-comptable ou de votre avocat pour une étude fonctionnelle et notamment pour les SCI, fréquemment utilisées par les biologistes pour les « murs » des laboratoires.

Nous prendrons l'exemple d'une société civile ayant clôturé son exercice au 31 décembre 2015 et prévoyant de consulter ses associés le 30 juin 2016 en assemblée générale (et donc pas par consultation écrite ou dans un acte).

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 74-75)

- | | | |
|---------------|----------------|----------------|
| 1. A, B, D, E | 7. A, B, D, E | 13. A, B, E |
| 2. B, C, D, E | 8. B, C, E | 14. A, C, D, E |
| 3. C, D, E | 9. A, B, E | 15. C, E |
| 4. B, C, E | 10. C, D, E | 16. A, D |
| 5. C, E | 11. A, C, E | |
| 6. A, B, D | 12. A, B, D, E | |



© theornb / fotolia.com

1. Phase de préparation

Les associés ayant une grande latitude pour déterminer dans les statuts les modalités selon lesquelles la reddition des comptes doit être faite, il conviendra de vérifier :

- le délai imparti au gérant afin de consulter les associés à compter de la clôture de l'exercice social : dans les sociétés civiles importantes ayant une activité économique, ce délai ne peut être inférieur à 6 mois à compter de la clôture de l'exercice, dans les sociétés qui ne dépassent pas certains seuils, la consultation des associés doit avoir lieu annuellement.
- le mode de consultation des associés (les statuts permettent-ils de consulter les associés par écrit, n'imposent-ils pas un mode de consultation particulier concernant la reddition des comptes du gérant).
- les documents et informations à fournir aux associés (les statuts prévoient-ils une véritable approbation des comptes, décrivent-ils les éléments comptables à fournir aux associés ou les informations à faire figurer dans le rapport du gérant).

Concernant la gérance, il convient de vérifier si :

- le mandat du gérant n'arrive pas à expiration : cette information figure dans le procès-verbal ayant nommé ou renouvelé le gérant ou éventuellement dans les statuts de la société. Dans l'affirmative, il convient de prévoir une résolution renouvelant son mandat.
- les statuts prévoient une limite d'âge pour l'exercice des fonctions de gérant et si le gérant ne l'a pas atteinte.
- la rémunération versée au gérant au cours de l'exercice clos correspond à celle prévue lors de la dernière délibération des associés ayant porté sur ce point. Si tel n'est pas le cas, il convient de prévoir une résolution visant à ratifier la rémunération perçue par le gérant au cours de l'exercice clos.

Si la société a une activité économique et a dépassé, au cours de l'exercice clos (2015), deux des trois seuils imposant la nomination d'un **commissaire aux comptes** (total de bilan > 1 550 000 €, montant net du chiffre d'affaires > 3 100 000 €, nombre moyen de salariés permanents > 50), les associés doivent être consultés sur la désignation d'un commissaire aux comptes (et d'un suppléant). Le commissaire aux comptes contrôlera les comptes de l'exercice 2016, mais non ceux de 2015.

Si la société a une activité économique, il conviendra, quelle que soit sa taille, d'établir un rapport sur les **conventions réglementées**.

Divers contrôles concernant les comptes doivent être effectués. Il faut se demander si :

- la société a une activité économique et dépasse les seuils imposant aux gérants d'établir un **rapport de la gérance sur l'activité de la société** et de faire approuver les comptes par les associés dans les six mois de la clôture de l'exercice (seuils identiques à ceux imposant la désignation d'un commissaire aux comptes) ;
- la société dépasse les seuils imposant au gérant d'établir des **documents de gestion prévisionnels**.
- existent des **dépenses et charges non déductibles** devant être mentionnées dans le rapport de la gérance sur l'activité de la société et soumises à l'approbation de l'assemblée générale (pour les sociétés civiles soumises à l'impôt sur les sociétés).

D'autres vérifications sont nécessaires pour lesquelles nous conseillons de vous rapprocher de votre Conseil habituel.

De même en ce qui concerne l'établissement des documents comptables, des documents de gestion prévisionnels et du rapport l'accompagnant, du rapport de la gérance sur l'activité de la société, du rapport sur les conventions réglementées, de la mise à disposition du commissaire aux comptes des comptes annuels et du rapport de la gérance, ainsi que du droit de communication du comité d'entreprise.

2. Assemblée générale

2.1. Envoi des convocations et communication des documents aux associés

2.1.1. Convocation

Quinze jours au moins avant l'assemblée (au plus tard le mercredi 15 juin 2016 pour les sociétés civiles tenant leur assemblée le 30 juin), chaque associé doit être convoqué. Les statuts déterminent qui a le droit de convoquer l'assemblée. Il s'agit le plus souvent du gérant. En l'absence de précisions dans les statuts, il revient au gérant de convoquer l'assemblée.

Un délai plus long peut avoir été prévu dans les statuts pour l'envoi des convocations ; il convient alors de le respecter.

Vérifiez auprès de votre Conseil le mode de convocation, mais sachez que les règles de convocation doivent être suivies de façon stricte car tout manquement peut être sanctionné par la nullité de l'assemblée.

Il y a également lieu de convoquer les commissaires aux comptes. Cette convocation doit leur être adressée par lettre recommandée AR au plus tard lors de la convocation des associés.

2.1.2. Ordre du jour

L'ordre du jour de l'assemblée doit être indiqué dans les lettres de convocation. Il est fixé par l'auteur de la convocation, c'est-à-dire, en principe, le gérant. Sauf clause contraire des statuts, les associés ne peuvent pas exiger l'inscription d'un point ou d'un projet de résolution à l'ordre du jour de l'assemblée et, à défaut d'entente avec la gérance, ils doivent solliciter du président du tribunal de grande instance la désignation d'un mandataire chargé de convoquer l'assemblée et de fixer l'ordre du jour.

Les questions qui sont inscrites à l'ordre du jour doivent être libellées de telle sorte que leur contenu et leur portée apparaissent clairement, sans qu'il y ait lieu de se reporter à d'autres documents.

2.1.3. Documents à communiquer aux associés ou à tenir à leur disposition

Quinze jours au moins avant l'assemblée, il faut adresser aux associés les documents suivants (sauf si tous les associés sont gérants) :

- un rapport d'ensemble sur l'activité de la société avec indication des bénéfices réalisés ou prévisibles et des pertes encourues ou prévues ;
- les rapports de l'organe de surveillance ou du commissaire aux comptes, s'il y a lieu ;
- le texte des résolutions proposées ;
- tous autres documents nécessaires à l'information des associés.

2.2. Tenue de l'assemblée

Sur les règles générales de la consultation des associés, titulaire du droit de vote, majorités, nombre de voix, consultez votre Conseil habituel.

2.2.1. Opérations préliminaires

■ Établissement d'une feuille de présence

L'établissement d'une feuille de présence n'est pas obligatoire, sauf stipulation contraire des statuts. Cependant, il peut être utile d'en préparer une si la société comporte de nombreux associés ou s'il

existe un risque de mésentente entre eux. Cette précaution permet en effet de justifier que la majorité et, le cas échéant, le quorum requis pour l'adoption des résolutions ont bien été obtenus. Elle permet aussi de se ménager par avance la preuve de la régularité de la tenue de l'assemblée en cas de litige ultérieur.

■ Présidence et bureau de l'assemblée

Les statuts peuvent préciser qui préside l'assemblée. À défaut, conformément à l'usage, l'assemblée est présidée par le gérant ou l'un des gérants, ou encore l'associé présent et acceptant qui possède le plus grand nombre de parts (notamment si aucun gérant n'est associé ou en cas de décès de l'associé gérant unique). Si deux associés qui possèdent ou représentent le même nombre de parts sont acceptants, la présidence de l'assemblée est assurée par le plus âgé.

■ Vérification du quorum

Aucune disposition du régime général des sociétés civiles ne subordonne la validité des assemblées générales à la présence ou à la représentation d'associés possédant un nombre minimal de parts.

Si un quorum est prévu par les statuts, le président de l'assemblée, le cas échéant assisté par le bureau ou le secrétaire, doit vérifier que le quorum est atteint avant d'ouvrir les débats. Le quorum doit subsister pendant toute la durée de l'assemblée. Si, par suite du départ d'associés, le quorum n'est plus atteint, la séance doit être levée.

Si le quorum n'est pas atteint, les associés ne peuvent pas délibérer et une nouvelle assemblée devra être convoquée avec le même ordre du jour. Pour éviter un blocage du fonctionnement de la société, il est nécessaire de prévoir dans les statuts une deuxième consultation avec un quorum sensible moins important que pour la première.

■ Vérification de la majorité

Les statuts peuvent librement fixer les règles de majorité applicables aux décisions collectives. Le calcul de la majorité peut s'effectuer en capital ou en nombre d'associés (par tête), ou en nombre et en capital ou encore, en fonction du nombre de voix détenues par chaque associé.

Si cette majorité n'est pas atteinte, le président de l'assemblée agira prudemment en dressant un procès-verbal constatant le défaut de majorité requis sur première convocation, se ménageant ainsi par avance la preuve de ce défaut de majorité et,

partant, de la possibilité pour l'assemblée de délibérer régulièrement sur seconde convocation (sauf stipulation contraire des statuts) à la majorité fixée par les statuts (qui devrait être en principe une majorité relative).

2.2.2. Débat et vote des résolutions

■ Documents à déposer sur le bureau de l'assemblée

Après émargement et certification de la feuille de présence s'il en est établie une, le président met à la disposition des associés un certain nombre de documents :

- un exemplaire des statuts à jour ;
- les copies des lettres de convocation des associés et les récépissés postaux des envois recommandés ;
- le cas échéant, la copie de la lettre de convocation du commissaire aux comptes et l'avis de réception ;
- s'il en a été établie une, la feuille de présence signée par les associés présents et les mandataires des associés représentés ;
- les pouvoirs des mandataires des associés ;
- l'inventaire ;
- les comptes annuels de l'exercice clos ;
- le rapport de gestion et, le cas échéant, le rapport sur les conventions réglementées ;
- le cas échéant, le rapport du commissaire aux comptes sur les comptes annuels ;
- le texte des projets de résolution ;
- le cas échéant, les lettres des associés contenant des questions écrites ;
- tous autres documents utiles à l'assemblée.

Une fois les documents présentés, le président de l'assemblée déclare la discussion générale ouverte, et une fois les débats terminés, les associés sont appelés à voter les résolutions figurant à l'ordre du jour.

■ Résolutions soumises à l'assemblée

Les principales résolutions concernent l'approbation de la gestion ou des comptes, et l'affectation du résultat.

S'agissant de ce dernier point, il convient de savoir que l'assemblée générale dispose d'un pouvoir discrétionnaire en matière de distribution ou de mise en réserve des bénéfices réalisés par la société. Les associés peuvent donc augmenter ou diminuer le montant du dividende proposé par le gérant. Il convient alors d'amender le texte des résolutions proposées par le gérant soit en votant la résolution proposée par le gérant puis en modifiant par exemple le montant du dividende dans une autre résolution, soit en rejetant la résolution proposée par le gérant et en votant une résolution prenant en compte les demandes des associés.

Sur les autres points, rapprochez-vous de votre expert-comptable ou de votre avocat.

■ Clôture de la séance

La clôture de la séance est prononcée quand l'ordre du jour de l'assemblée a été totalement épuisé et quand toutes les résolutions proposées ont été soumises au vote des associés.

Le président ne peut prononcer la clôture de séance qu'après examen de la dernière résolution proposée. Le président qui pro-

noncerait abusivement la clôture avant l'épuisement de l'ordre du jour pourrait être remplacé par l'assemblée.

Lorsque la séance a été levée après épuisement de l'ordre du jour, plus aucune décision ne peut être soumise au vote des associés.

2.3. Établissement du procès-verbal

Toute consultation des associés, quelle qu'en soit la forme, doit être constatée dans un procès-verbal.

Les mentions suivantes doivent figurer sur le procès-verbal :

- les nom et prénoms des associés ayant participé à la consultation ;
- le nombre de parts détenues par chacun d'eux ;
- les documents et rapports soumis aux associés ;
- le texte des résolutions mises aux voix, observation faite qu'il faut reproduire non seulement les résolutions adoptées définitivement, mais aussi celles qui ont été rejetées par les associés ;
- le résultat des votes.

En outre, s'agissant dans notre exemple d'une assemblée, il convient d'indiquer :

- la date et le lieu de la réunion ;
- les nom, prénoms et qualité du président de séance ;
- un résumé des débats.

Le procès-verbal doit être établi et signé sur un registre spécial coté et paraphé par les autorités compétentes et tenu au siège social ou sur des feuillets mobiles numérotés sans discontinuité, paraphés chacun dans les mêmes conditions que celles prévues pour le registre. Dès qu'une feuille a été remplie, même partiellement, elle doit être jointe à celles précédemment utilisées ; toute addition, suppression, substitution ou interversion de feuillets est interdite.

Les copies ou extraits des procès-verbaux des délibérations des associés sont valablement certifiés conformes par l'un des gérants.

Pour conclure rappelons que les sociétés civiles les plus importantes exerçant une activité économique et devant établir des documents de gestion prévisionnelle dans les quatre mois de la clôture de l'exercice doivent actualiser certains d'entre eux. ■■



© denissimonov / fotolia.com

ÉCHOS PARLEMENTAIRES

Après Germanwings : lever le secret médical pour les professions à risque

La proposition formulée par le sénateur Alain Houpert à l'adresse du ministère de la Santé fait référence à la dramatique catastrophe aérienne provoquée volontairement par un pilote de la compagnie Germanwings dans les Alpes de Haute-Provence. Le parlementaire rappelle que l'article R. 4127-4 du Code de la santé publique (CSP) précise : « Le secret professionnel institué dans l'intérêt des patients s'impose à tout médecin dans les conditions établies par la loi. Le secret couvre tout ce qui est venu à la connaissance du médecin dans l'exercice de sa profession, c'est-à-dire non seulement ce qui lui a été confié mais aussi ce qu'il a vu, entendu ou compris ». Depuis le *crash*, le suivi médical des pilotes de ligne est au cœur des débats. Ne serait-il pas justifié de revenir sur la signification du secret médical pour certaines professions à risque ?

L'enquête sur cette catastrophe a révélé que le pilote faisait l'objet d'un suivi psychiatrique et s'était vu prescrire au moins un antidépresseur et un neuroleptique, posant ainsi la question du suivi des patients sous traitements psychiatriques, en particulier, lorsque leur pathologie comme leur traitement comportent, du fait de leur activité professionnelle, un risque pour la sécurité de tiers, noter le ministère. La dépression est une maladie fréquente (prévalence dans la population générale : environ 15 %). Le suicide est la première complication du trouble dépressif. L'OMS estime à 1 million le nombre de morts par suicide chaque année dans le monde. Dans un contexte de pathologie psychiatrique, les comportements suicidaires et hétéro-agressifs [agression contre autrui] sont difficiles à dissocier de la maladie du patient et, par conséquent, il est difficile d'établir un lien de causalité avec un médicament. On estime que seulement 25 % des patients déprimés reçoivent un traitement adéquat pour leur dépression et la majorité des sujets déprimés qui se sont suicidés ne recevaient pas d'antidépresseurs.

Le signalement, dans certaines situations particulières, des personnes atteintes de dépression et qui suivent à ce titre un traitement, pose la question du respect du secret médical et des conditions dans lesquelles il peut, exceptionnellement, y être dérogé. L'article L 1110-4 du CSP énonce le principe du

droit de tout patient au respect de sa vie privée et au secret des informations le concernant et s'imposent à tout professionnel de santé, il ne peut y être dérogé que par la loi ou un texte réglementaire pris en application de la loi. Des dérogations légales au secret médical, justifiées par l'intérêt du patient, l'intérêt de la santé publique ou de la protection sociale, la sécurité publique ou encore dans le cadre de la justice, existent cependant.

Ainsi, l'article L 1110-4 du CSP précise les conditions dans lesquelles le professionnel de santé peut, avec le consentement du patient, procéder au partage des informations qu'il détient, dans le but d'assurer la continuité des soins et de déterminer la meilleure prise en charge. L'article L.3113-1 du CSP impose aux médecins de transmettre à l'autorité sanitaire les données individuelles anonymes relatives aux maladies qui nécessitent une intervention urgente locale, nationale ou internationale et à celles dont la surveillance est nécessaire à la conduite et à l'évaluation de la politique de santé publique.

Les articles L.3213-1 à L.3213-10 du CSP permettent au médecin de faire hospitaliser d'office, et de signaler, les personnes atteintes de troubles mentaux lorsque leur comportement risque de porter gravement atteinte à l'ordre public. Enfin, le médecin ayant en charge un patient dont il estime que l'état de santé doit être pris en compte dans sa vie professionnelle, peut partager des éléments d'information avec le médecin du travail, avec l'accord du patient. Le médecin du travail a alors l'obligation d'alerter l'employeur de l'inaptitude au travail.

Envisager de nouveaux assouplissements du secret médical nécessite réflexion. En ce qui concerne plus précisément les pilotes, leur situation relève des règles d'organisation du contrôle de l'aptitude du personnel navigant de l'aéronautique civile, qui sont de la compétence en France du secrétariat d'État chargé des transports, auprès de la ministre de l'Écologie, du développement durable et de l'énergie. ■■

J.-M. M.

Allergologie : quand reconnaîtra-t-on cette vraie spécialité ?

En novembre dernier, Marie Mercier, sénatrice, interpellait la ministre des Affaires sociales et de la Santé sur la situation de l'allergologie en France. Alors qu'un nombre croissant de nos concitoyens est atteint d'allergies, notamment les générations les plus jeunes, force est de constater qu'un problème se pose quant à l'allergologie en France. Treize États européens la reconnaissent comme une spécialité. Pour aller dans ce sens, la Commission nationale pédagogique des études de santé et la Commission nationale de l'internat et du post-internat ont préconisé la création d'un Diplôme d'études supérieures (DES) *Allergologie et immunologie clinique* (propositions pour la formation initiale et la formation tout au long de la vie des spécialistes médicaux de juin 2015). Hélas...

Créée par le décret n° 2015-813 du 5 juillet 2015, la commission nationale des études de maïeutique, médecine, odontologie et pharmacie, remplaçant les deux précédentes commissions, a décidé de supprimer la création de ce DES. Devant les enjeux médicaux du monde de demain, notamment les prévisions d'augmentation du nombre de personnes souffrant d'allergies, la parlementaire souhaite alerter sur l'importance de donner [enfin] à cette discipline une place à part entière.



© Simon Dannhauer / fotolia.com



© nito/fotolia.com

Réponse ministérielle (21 avril) qui botte en touche : la réforme du 3^e cycle des études de médecine est actuellement discutée dans le cadre de la Commission nationale des études de maïeutique, médecine, odontologie et pharmacie (CNEMMOP) instituée par décret du 3 juillet 2015 et devrait être finalisée dans le courant de l'année. Il n'est pas envisagé de supprimer la formation en allergologie mais, au contraire, d'en faire une *formation spécialisée transversale* (FST) accessible aux internes poursuivant différents diplômes d'études spécialisées, afin de répondre au mieux aux besoins de la population.

Ainsi en tant que FST, l'allergologie serait associée à plusieurs spécialités tout en disposant d'une autonomie pédagogique identifiée par un programme national. Elle ouvrira par ailleurs à un exercice exclusif au sein des spécialités auxquelles elle sera associée. ■■

J.-M. M.

Glyphosate : du contre et du pour

Le député William Dumas attire l'attention du ministère de l'Agriculture sur le glyphosate et la position européenne sur cet herbicide dont le volume de production au niveau mondial est le plus important de tous les herbicides (Roundup®). Son utilisation est particulièrement importante en agriculture, notamment du fait du développement des cultures génétiquement modifiées pour être résistantes au glyphosate [qui ne s'attaque alors qu'aux mauvaises herbes-NDLR]. L'OMS l'a détecté dans l'air, l'eau et les aliments et en mars 2015, l'agence du cancer de l'OMS [CIRC, Lyon] a conclu que 5 pesticides et herbicides organophosphorés courants étaient des cancérigènes *probables ou possibles* pour l'Homme. Or l'Autorité européenne de sécurité des aliments [EFSA] estime qu'il était improbable que le glyphosate présente ce risque cancérigène. S'il est indéniable que l'EFSA et l'OMS ont une approche différente de la classification des produits chimiques, force est de constater qu'il serait tout de même insensé de faciliter le retour sur le marché d'un pesticide sur la base d'une évaluation des risques sous-estimée favorable à l'industrie. En effet, cet avis entre dans le cadre de la réévaluation des risques du glyphosate pour renouveler son autorisation en Europe. Par conséquent, il serait bon d'attendre que ce processus soit terminé avant de renouveler toute autorisation.

Réponse : Le CIRC a classé le glyphosate en cancérigène probable. Cette molécule est très employée comme désherbant, à la fois par les professionnels (8 660 tonnes commercialisées en France en 2013), et par les jardiniers amateurs (2 055 tonnes).

La communauté scientifique n'est pas unanime : d'autres experts internationaux ne partagent pas l'analyse du CIRC. Le groupe JMPR de l'OMS (*Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues*) a conclu à l'absence de cancérogénicité.

Le glyphosate fait actuellement l'objet d'une procédure européenne de renouvellement de son approbation en tant que substance active phytopharmaceutique. La France a demandé à son Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) d'examiner les travaux du CIRC, et les conclusions sur lesquelles s'est fondé le CIRC et de veiller à leur prise en compte dans l'évaluation. L'ANSES a rendu son avis le 9 février 2016, indiquant qu'au vu du *niveau de preuve limité*, la classification en catégorie C2 (substance suspectée d'être cancérigène pour l'Homme) selon les critères du Règlement communautaire (CE) *peut se discuter*.

L'ANSES estime que le classement du glyphosate doit être rapidement revu par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) et poursuit ses travaux sur les risques liés aux co-formulants dans les préparations à base de glyphosate, et procède en particulier à la réévaluation des autorisations de mise sur le marché des préparations associant glyphosate et POE-tallosamine, étant donné les éléments mis en lumière par l'EFSA. Dans ce contexte, lors de la réunion du comité d'experts en mars 2016, le gouvernement français a annoncé qu'il ne voterait pas la proposition de renouvellement d'approbation du glyphosate présentée par la Commission européenne. La délégation française a indiqué que, compte tenu de l'évaluation de l'EFSA, et l'avis de l'ANSES du 9 février 2016, elle pourrait revoir sa position en faveur du renouvellement si la Commission émet en parallèle des propositions sur les co-formulants interdits et le caractère *non perturbateur endocrinien* du glyphosate. ■■

J.-M. M.



© narongcp/fotolia.com



© Vilev/fotolia.com

Hôpitaux : baisse des effectifs... ou pas ?

À l'Assemblée nationale, la députée Claude Greff interpelle la ministre des Affaires sociales et de la Santé, lui rappelant que le système de santé rencontre des difficultés importantes, alors que « chacun d'entre nous veut sa pérennité mais nous ne faisons pas tous les mêmes choix », dit-elle, évoquant l'annonce de la fermeture de 16 000 lits. Une annonce « particulièrement brutale : après vous être mis à dos la quasi-totalité des professionnels de santé libéraux et les cliniques » [et les infirmiers, crie un de ses collègues], lui reprochant de vouloir... détruire le système médical libéral et le secteur hospitalier public où « le ton monte », alors qu'il y a complémentarité entre hôpital public et médecine libérale. Reprochant à la ministre ses « non-dits et sa pédagogie aux abonnés absents », pour Mme Greff, la communauté hospitalière sait très bien que les capacités d'accueil doivent évoluer mais elle a besoin de vérité et d'un vrai projet : « Ne vous cachez pas derrière les fermetures de lits pour ne pas admettre que vous voulez réduire les effectifs dans le but de réduire les déficits ». Elle ajoute : « *Votre gouvernement veut transformer certains centres d'urgence en centres de consultation sans rendez-vous ; cela porte un coup supplémentaire à la médecine libérale, qui remplit déjà cette mission. Et les élus n'ont même pas été consultés* » !

La parole est alors donnée à la secrétaire d'État chargée des personnes handicapées et de la lutte contre l'exclusion, Ségolène Neuville, en l'absence de la ministre, qui ironise : « *Pour être tout à fait franche, il m'est très agréable de vous entendre ainsi défendre l'hôpital public car je n'oublie pas que vous aviez supprimé le service public hospitalier* » (sic). Elle répétera plusieurs fois cette accusation...

Comme l'a annoncé la ministre à plusieurs reprises, « *il n'y a pas et il n'y aura pas de plan national de fermeture de lits à l'hôpital* ». En ce qui concerne l'emploi et les moyens de l'hôpital public, il faut rappeler certains chiffres : depuis 2012, les effectifs paramédicaux à l'hôpital auraient augmenté de plus de 5 %. Ce que la députée met en doute. « *C'est la réalité*, réplique S. Neuville, *près de 22 000 nouveaux postes ont été créés à l'hôpital public. Les faits parlent d'eux-mêmes et démontrent que le gouvernement entend préserver les effectifs hospitaliers... Il n'y a pas eu et il n'y aura pas de baisse des effectifs à l'hôpital public* ».

En ce qui concerne les budgets, plus de 1,3 milliard d'euros supplémentaires ont été consacrés aux établissements de santé depuis 2012, dit la secrétaire d'État. Quant à la réforme contenue dans le plan triennal d'économies de l'Assurance-Maladie, elle vise à préserver l'accès de tous au service public hospitalier ». Elle vise aussi à optimiser l'organisation des soins pour répondre à de nouveaux besoins, comme les prises en charge ambulatoires. Mais elle ne vise en aucun cas à réduire l'emploi dans les hôpitaux... ■■

J.-M. M.

Une prochaine loi contre l'ambrosie

Patrick Lemasle, député, alerte la ministre de l'Environnement sur le nombre croissant de personnes souffrant d'allergie au pollen d'ambrosie, et vu la prolifération exponentielle de cette plante invasive : il y aurait 1 million de ses victimes. Le préjudice sanitaire est considérable, les allergiques sont soumis à des traitements antihistaminiques et souffrent des effets indésirables de la cortisone. Selon l'Observatoire régional de la santé Rhône-Alpes la France a connu un doublement du nombre d'allergiques au pollen d'ambrosie de 2004 à 2014, la prévalence serait passée de 10 % à 21 % de la population. Sans coordination des moyens de lutte, il est à craindre de voir la prévalence atteindre 40 % d'ici dix ans. Quelles dispositions particulières est-il prévu de mettre en place pour limiter l'expansion de cette espèce envahissante et prévenir ses effets sur la santé.

Réponse : informé des effets sanitaires qu'engendre la prolifération de l'ambrosie et des coûts de santé, le ministère de la Santé a inscrit depuis 2004 la lutte contre cette plante au pollen hautement allergisant parmi les objectifs des trois Plans Santé-Environnement nationaux, et plusieurs actions ont été mises en place pour limiter son expansion et prévenir ses effets sur la santé : création de l'Observatoire des ambrosies, centre de ressources de référence, réalisation de cartographies d'implantation de la plante, indiquant sa progression sur le territoire métropolitain.

Selon le projet européen ATOPICA, auquel plusieurs équipes françaises ont participé, la concentration dans l'air du pollen d'ambrosie pourrait quadrupler en Europe à l'horizon 2050, en raison des activités humaines qui favorisent sa dispersion mais aussi du changement climatique qui favorise son développement. La conséquence en serait au moins le double du nombre d'allergiques Européens. Il est donc nécessaire de renforcer la lutte contre l'ambrosie, notamment en rendant cette lutte obligatoire à l'échelle nationale.



© yur1956i/fotolia.com

La loi de modernisation de notre système de santé du 26 janvier 2016 a créé, dans le Code de la santé publique, un chapitre relatif à la lutte contre les espèces végétales et animales nuisibles à la santé humaine. Un décret devrait prochainement fixer la liste des espèces concernées et les mesures de prévention et de lutte susceptible contre elles. L'ambrosie sera parmi les espèces visées par ces dispositions. La loi a prévu la possibilité d'interdire ou de limiter l'introduction, le transport ou la mise sur le marché des espèces visées par le décret.

La loi permettra par la suite des mesures de prévention et de lutte contre d'autres espèces végétales, tels la berce du Caucase, plante envahissante qui peut provoquer de graves brûlures par contact cutané et exposition au rayonnement solaire, ou des espèces animales telles les chenilles processionnaires qui émettent des poils très urticants. ■■

Jean-Marie Manus